

최종보고서 [기관고유연구사업]

과제고유번호	1310210	연구분야 (코드)	T-1	지원 프로그램	창의 (일반연구)과제	공개가능여부 (공개, 비공개)	공개
연구사업명	국립암센터 기관고유연구사업						
연구과제명	DNA damaging 항암제 또는 antimitotic 항암제 내성 극복 연구를 통한 새로운 chemotherapy 방법의 개발						
과제책임자	성명	윤성필	소속	유방내분비암연구과	직위	선임연구원	
세부과제	구분	과제명			과제책임자		
		성명	소속(직위)	전공			
	(1세부)	DNA damaging 항암제 또는 antimitotic 항암제 내성 극복 연구를 통한 새로운 chemotherapy 방법의 개발			윤성필	유방내분비암연구과	Human Genetics
	(2세부)						
	(3세부)						
총연구기간	2013년 1월 ~ 2015년 12월 (총 3년)		해당단계 참여 연구원 수	총: 명 내부: 명 외부: 명	해당단계 연구개발비	연구비: 민간: 천원 계: 천원	
			총연구기간 참여 연구원 수	총: 명 내부: 명 외부: 명	총연구개발비	연구비: 민간: 천원 계: 천원	
연구기간 및 연구비 (단위:천원)	구분	연구기간	계	국립암센터	기업부담금		
					소계	현금	현물
	계	2013.1.1 ~ 2015.12.31	208,000				
	제1차	2013.1.1 ~ 2013.12.31	80,000				
	제2차	2014.1.1 ~ 2014.12.31	80,000				
제3차	~2015.1.1 ~ 2015.12.31	48,000					
참여기업	참여기업명 :						
국제공동연구	상대국명:				상대국 연구기관명:		
위탁연구	연구기관명:				연구책임자:		

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)

2015년 10 월 27 일

과제책임자 : 윤성필 (인)

국립암센터원장 귀하

< 국문 요약문 >

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p><최종목표> 암 세포에서 DNA damaging 항암제 또는 antimitotic 항암제의 효과를 증가 시킬 수 있는 새로운 조건과 인자의 발굴과 더불어, 기작 발굴을 통하여 combination-chemotherapy에 있어서 새로운 모델을 제시하여 암의 치료에 적용될 수 있는 토대를 제공 함.</p>																
<p>연구개발성과</p>	<p><정량적 성과></p> <table border="1" data-bbox="438 694 1372 828"> <thead> <tr> <th>구분</th> <th>달성치/목표치¹⁾</th> <th>달성도(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SCI 논문 편수</td> <td>7/8</td> <td>88</td> </tr> <tr> <td>IF 합</td> <td>18/24</td> <td>75</td> </tr> <tr> <td>기타 성과</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p><정성적 성과> - 본 과제에서 얻어진 결과는 combination-chemotherapy에 있어서, DNA damaging 항암제, antimitotic 항암제, akt targeting항암제의 sensitization을 증가 시킬 수 있는 좋은 partner 선택에 큰 기여를 할 것임.</p>					구분	달성치/목표치 ¹⁾	달성도(%)	SCI 논문 편수	7/8	88	IF 합	18/24	75	기타 성과		
구분	달성치/목표치 ¹⁾	달성도(%)															
SCI 논문 편수	7/8	88															
IF 합	18/24	75															
기타 성과																	
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>- 논문 등의 결과물은 DNA damaging 항암제, antimitotic 항암제, antimitotic 항암제, akt targeting항암제의 sensitization을 증가 할 수 있는 새로운 mechanisms을 규명하는데 도움을 줄 것으로 예상됨. - DNA damaging 항암제 또는 antimitotic 항암제가 관여하는 새로운 targets의 발견은 DNA damage 또는 antimitotic 항암제를 증가 시킬 수 있는 항암제 개발을 위한 새로운 표적 분자를 제공하게 되고, DNA damaging 항암제 또는 antimitotic 항암제의 효율을 높이는 물질, 조건, 기작을 밝혀 암의 치료를 위한 새로운 초석을 마련할 것임.</p>																
<p>중심어 (5개 이내)</p>	<p>암</p>	<p>내성</p>	<p>DNA damaging 항암제</p>	<p>antimitotic 항암제</p>	<p>신호전달경로</p>												

< SUMMARY >

<p>Purpose & Contents</p>	<p>Chemotherapy is widely used for the treatment of various cancers. DNA-damaging and anti-mitotic drugs are the two types of chemotherapeutic drugs. While chemotherapeutic drugs are widely used to treat cancer, patients develop resistance to these drugs, specifically after prior exposure to chemotherapy. One of the important resistance mechanisms involves increased expression of P-glycoprotein (P-gp) on the cancer cell membranes to pump-out the chemotherapeutic drugs, in an attempt to avoid drug-induced toxicity.</p> <p>This study aimed to identify the novel mechanisms of repositioning drugs, sensitize resistant cells, inhibit P-gp expression, or improve the efficacy of repositioned drugs when used in combination with chemotherapeutic drugs. Another prominent goal was to identify best derivative of the repositioned drugs. Taken together, the purpose of this study was to identify the mechanisms underlying the sensitizing effects of repositioned drugs against resistant cancer cells.</p>				
<p>Results</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Co-treatment with the anti-malarial drugs mefloquine and primaquine highly sensitizes drug-resistant cancer cells by potentiating P-gp inhibition 2. Thioridazine specifically sensitizes drug-resistant cancer cells by inducing apoptosis and P-gp inhibition 3. SP600125 overcomes antimitotic drug-resistance in cancer cells by increasing apoptosis independent of P-gp inhibition 4. Selenate specifically sensitizes drug-resistant cancer cells by increasing apoptosis via G2 phase cell cycle arrest independent of P-gp inhibition 5. Co-treatment of salinomycin sensitizes chemotherapeutic- or Akt-targeting drug-treated cancer cells by increasing apoptotic cell death 				
<p>Expected Contribution</p>	<p>These drugs are already used clinically or have passed preclinical trials (exception of SP600125) and therefore, are ideal therapeutic candidates, provided, their mechanism of action on resistant cancer is completely understood. These drugs could be used without further toxicity evaluation. The results would be a major contribution to improve the efficacy of various combination chemotherapeutic treatments for cancer patients who develop resistance to chemotherapeutic drugs.</p>				
<p>Keywords</p>	<p>cancer</p>	<p>drug resistance</p>	<p>DNA damaging drugs</p>	<p>antimitotic anti-cancer drugs</p>	<p>signaling pathways</p>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의개요	1
2. 국내외 기술개발 현황	6
3. 연구수행 내용 및 결과	7
4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	23
5. 연구결과의 활용계획 등	24
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	24
7. 연구개발과제의 대표적 연구실적	25
8. 참여연구원 현황	27
9. 기타사항	27
10. 참고문헌	27

<별첨> 자체평가의견서

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

: 최종목표 : 암 세포에서 DNA damaging 항암제 또는 antimitotic 항암제의 효과를 증가 시킬 수 있는 새로운 조건과 인자의 발굴과 더불어, 기작 발굴을 통하여 combination-chemotherapy에 있어서 새로운 모델을 제시하여 암의 치료에 적용될 수 있는 토대를 제공 함.

: 1차년도 (2013년) 목표

- Salinomycin이 doxorubicin, etoposide에 관계된 DNA damaging 항암제외에 다른 종류의 항암제를 sensitization 시키는 지에 대한 연구
- Salinomycin에 저항적인 내성암세포주를 만드는 연구
- Salinomycin sensitization과 관계된 전사인자와 signaling pathways의 탐색에 대한 연구
- DNA damaging 항암제 또는 antimitotic 항암제의 효과를 증가 시킬 수 있는, 더 많은 새로운 물질의 탐색과 기작 규명에 대한 연구

: 2,3차년도 (2014-2015년) 목표

- 항암제 내성을 가지는 세포를 sensitization 하는 찾아낸 새로운 물질 primaquine, mefloquine, thioridazine의 심층 연구
- Salinomycin에 대한 내성 세포주를 sensitization 시키는 항암제와 기작 연구
- Salinomycin이 다양한 종류의 targeting 항암제를 sensitization 시키는 지에 대한 연구
- DNA damaging 항암제 또는 antimitotic 항암제의 효과를 증가 시킬 수 있는, 더 많은 새로운 물질의 탐색과 기작 규명에 대한 연구

1-2. 연구개발의 배경 및 필요성

: DNA damages를 일으키는 항암제

- 많은 DNA damages를 일으키는 항암제 중에서, 널리 사용되는 항암제의 종류로는 doxorubicin, etoposide, irinotecan, topotecan, carboplatin, cisplatin, oxaliplatin, 5-FU, capecitabine, gemcitabine 등이 있음 (Ref. 1-4). 특히 cisplatin의 경우 triple negative breast cancer 환자에게서 많이 사용되고 있음.
- 또한 위의 10가지 DNA damaging 항암제를 modify하여 DNA damages를 증가 시킬 수 있는 항암제를 만들기도 함.
- 주로 암의 종류와 암의 진행된 경과에 따라 이러한 항암제를 다르게 사용되고 있음. 예를 들어 doxorubicin과 etoposide는 endocrine-resistant 또는 metastatic 암과 같이 advanced 암 환자에 널리 쓰이는 항암제임 (Ref. 5).
- 이러한 항암제의 주된 작용은 세포의 apoptosis를 일으킨다고 알려졌다. 주로 DNA damage를 일으켜서 caspases pathway를 거쳐서 apoptosis를 일으키는 것으로 알려졌다 (Ref. 6,7).
- 이러한 DNA damages를 일으키는 항암제 각각의 target은 다르게 알려져 있음. 예를 들어 doxorubicin, etoposide, irinotecan, topotecan은 topoisomerase를 inhibition하여 DNA의 breakages를 유도한다고 알려져 있음. 5-FU, capecitabine, gemcitabine는 pyrimidine 유사체 (pyrimidine antagonist)로 thymidylate synthase의 inhibitor로 알려져 있음. Carboplatin, cisplatin, oxaliplatin의 경우는 DNA와 crosslinking을 한다고 알려져 있음 (Ref. 8,9).
- 따라서 이러한 항암제의 궁극적인 목적은 DNA 복제를 막아서 암세포의 성장을 막음. 또한 암세포가

잘못된 DNA 복제를 하게 하여 증식을 하여도 다음 세대에 잘못된 DNA 정보에 의해 죽게 만드는 역할을 함.

: DNA damaging 항암제를 sensitizing 하기 위한 연구의 필요성

- DNA damaging 항암제는 효과적으로 암 환자에게 많이 사용되고 있지만, 이 약물의 첫 번째 사용 후에 암 세포는 내성을 가지게 되어서, 두 번째 사용부터는 이 항암제의 효율성이 떨어지는 문제가 있음 (Ref. 10,11).

- 이러한 내성이 생긴 암을 위하여 DNA damaging 항암제와 다른 항암제 또는 물질들을 combination하는 combination-chemotherapy가 사용되고 있음 (Ref. 12,13). 이러한 물질에는 vitamin, 식물 등 natural products를 들 수 있음. Radiation을 combination 하기도 함.

- 특히 cisplatin의 경우 예후가 좋지 않은 triple negative 유방암 환자에게서 많이 사용되기 때문에 cisplatin의 효능을 증가 시킬 수 있는 물질의 경우 임상에서 매우 유용하게 쓰일 것임.

- 따라서 DNA damaging 항암제의 반응을 증진 시킬 수 있는 새로운 물질의 탐색과 발굴은 환자에게 보다 효율적으로 combination-chemotherapy의 기회를 제공할 것임.

: DNA damaging 항암제를 sensitizing 하기 위한 연구의 방향

- DNA damaging 항암제에 의해 성장이 줄어들거나 또는 내성을 가지는 암 세포의 특징을 아는 것은 암 환자에게 보다 효과적으로 combination-chemotherapy를 할 수 있는 기회를 줄 수 있을 것임.

- 또한 DNA damaging 항암제에 의해 변화되는 새로운 유전자자의 발견은 이 항암제의 정확한 기작의 이해에 대한 도움을 줄 뿐만 아니라, 내성을 가진 암세포의 원인을 규명하는데 도움이 될 것임.

- 내성이 생긴 암을 위하여 DNA damaging 항암제와 다른 항암제 또는 물질들을 combination 하여 좋은 조건과 유전자를 선별하는 연구는 효율적으로 combination-chemotherapy 기회를 제공할 것임.

- 궁극적으로 DNA damaging 항암제에 대한 combination-chemotherapy를 할 시에, 환자의 유전자의 변화와 특징에 따라 맞춤형 항암제를 투여할 기회를 제공할 것임.

: DNA damaging 항암제를 sensitizing하기 위한 연구 I: DNA damages와 Cell Cycle 단백질의 증감에 대한 연구

- DNA damaging 항암제의 효과를 높이기 위해서는 DNA damages를 더 높일 수 있는 물질을 찾는다면 이러한 항암제를 sensitization 하는데 중요한 역할을 할 것으로 여겨짐. 그림 1에서 보는바와 같이 이러한 역할을 하는 단백질들을 볼 수 있음 (Ref. 14,15). 따라서 이러한 단백질의 level을 높이는 새로운 물질들을 찾음으로써 DNA damaging 항암제의 효과를 배가 시킬 수 있음을 알 수 있겠음.

- 그림 2에서 보듯이 tumor suppressor proteins로서는 p16, p18, p21, p27, p53 등이 있으며 cell cycle을 arrest 시킴으로써 세포성장을 막는다고 알려졌다 (Ref. 16-18). 또한 이러한 단백질들은 DNA damages와도 긴밀하게 관계가 되어 있는 것을 그림 2에서 볼 수 있음. 이러한 cell cyclic proteins and tumor suppressors를 통해서 DNA damages를 증가 시킬 수 있는 새로운 물질들의 발견은 항암제와의 combination-chemotherapy의 기회를 넓힐 것임. 최근에는 p21 등의 tumor suppressor가 anti-apoptotic protein의 기능을 가진다고 알려졌다. 따라서 다른 한편으로 연구자들은 이러한 p21 단백질을 줄일 수 있는 새로운 물질을 개발하기 위하여 노력하고 있음 (Ref. 19,20).

그림 1. DNA damages에 관여된 단백질들

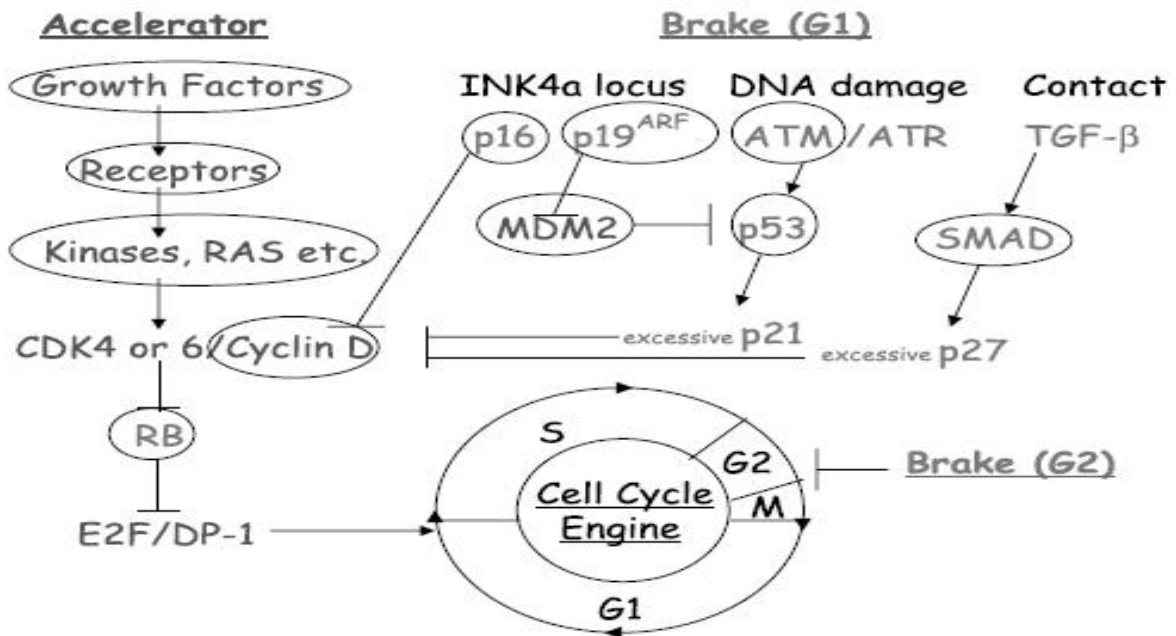


그림 2. Cell cyclic proteins과 tumor suppressors의 DNA damages의 관련성

: DNA damaging 항암제를 sensitizing하기 위한 연구 II: 전사인자와 growth signaling pathways의 연구

- DNA damaging 항암제에 의해서 DNA의 damages가 일어나면 암 세포가 증식을 멈춘 후 DNA를 repair한 후 다시 성장을 하게끔 조절할 수 있는 인자가 필요함. 특히, 이 중 전사인자와 signaling pathway에 관련된 유전자가 중요 역할을 한다고 알려짐 (Ref. 21-23). DNA의 damages에 관계된 단백질과 더불어 이러한 전사인자와 signaling pathway에 관여하는 단백질 (Kinases)을 어떻게 막느냐가 중요하다고 하겠음.

- 따라서 DNA damages가 일어났을 시에 변화하는 전사인자 또는 signaling pathway의 탐색은 이 약물에 대한 세포성장의 감소 또는 내성을 일으키는 기작을 밝히는데 큰 도움이 될 것임. 전사인자와 signaling pathway에 관여하는 단백질 (Kinases)의 분자적 level에서의 기작이 계속 연구되고 있음. 현재 여러 종류의 전사인자와 signaling pathway 관련 유전자를 targets로 많은 약물이 개발되고 있음 (Ref. 21-23).

- 전사인자 중에 특히 DNA damages와 관련된 그리고 암세포의 증식 그리고 항암제 내성과 관련된 최근에 활발히 연구가 되는 3가지의 유전자 family가 있음.

; Stat, NF- κ B, AP1 3가지 family를 들 수가 있음 (Ref. 24-26). 이들은 암세포의 종류와 개인 차이에 따라 각각 DNA damages에 대한 기여도가 차이가 난다고 할 수 있음. 따라서 한 종류의 세포내에서 이들의 종합적인 분석을 통한 기여도를 측정하는 것이 중요하다고 하겠음.

- 이러한 DNA damages를 조절할 수 있는 전사인자의 활성을 위해서는 upstream에 존재해서 signaling을 전달할 수 있는 kinases이 필요함. 전사인자는 cytoplasm에 존재 하다가, 외부 signal들에 의하여 activation되는데 이것을 매개하는 것들이 전사인자의 upstream signaling kinases임.

- Signaling pathway에 관여하는 대표적인 kinases 크게 몇 가지로 나누게 될 수 있음 (Ref. 24-26). Erk, Jnk1, Jak, Src, p38, Akt, IKK, EGFR pathways를 들 수 있음.

- DNA damaging 항암제에 내성을 가지는 암 세포를 위한, 아직까지 알려지지 않은 새로운 전사인자와 signaling pathway가 있을 것으로 기대됨. 이러한 새로운 인자의 발견은 DNA damages를 증가 시키는 항암제의 효율성을 배가 시킬 것임.

: Antimitosis를 일으키는 항암제

- 많은 antimitosis를 일으키는 항암제 중에서, 널리 사용되는 항암제의 종류로는 paclitaxel, docetaxel, vinblastin, vincristine 등이 있음.

- 또한 위의 4가지 antimitotic 항암제를 modify하여 세포 분열을 더더욱 억제 시킬 수 있는 항암제를 만들기도 함.

- 위에 기술한 DNA damaging 항암제의 문제점과 연구 방향이 antimitotic 항암제의 문제점과 연구 방향과 비슷하다고 하겠음.

1-3. 연구개발 범위

: Salinomycin이 doxorubicin, etoposide에 관계된 DNA damaging 항암제 외에 다른 종류의 항암제를 sensitization 시키는 지에 대한 연구

- Salinomycin이 topoisomerase라는 특정 단백질을 target으로 하는 DNA damaging 항암제 (doxorubicin, etoposide)을 타겟으로 하는 항암제 외에, 다른 기작으로 작용하는 DNA damaging 항암제를 sensitization 할 수 있는지를 연구할 예정임.

- 이 결과는 salinomycin이 대부분의 DNA damaging 항암제에 대한 general mechanism을 가지는지에 대한 연구이기도 함.

- 이 연구 결과는 salinomycin과 가장 좋은 combination의 DNA damaging 항암제를 선별할 수 있는 기

회를 제공할 것임.

: Salinomycin에 저항적인 암세포를 sensitization 할 수 있는지에 대한 연구

- 만들어진 salinomycin 내성 세포주를 가지고 다양한 항암제에 의해 sensitization 되는지 그리고 얼마나 효과적인지, 어떠한 항암제가 가장 좋은지를 연구 하겠음. 또한 salinomycin 내성 세포주를 sensitize 시키는 기작 연구를 하겠음..
- 암세포를 salinomycin으로 오랫동안 처리할시 내성이 생기게 됨. 따라서 이러한 내성 세포주가 어떠한 종류의 DNA damaging 항암제에 sensitization 되는지에 대한 연구를 할 예정임.
- 만들어진 salinomycin 내성 세포주를 가지고 어떠한 항암제에 의해 sensitization 되는지 그리고 얼마나 효과적인지, 어떠한 항암제가 가장 좋은지를 연구 하겠음. DNA damaging 항암제 외에 antimitotic 항암제, targeting 항암제까지도 그범위를 넓힐 예정임.
- 이를 위하여 MTS assay와 microscopic observation을 사용 하여 growth와 viability를 test 하겠음.

: Salinomycin sensitization과 관계된 전사인자와 signaling pathways의 탐색에 대한 연구

- Salinomycin이 다양한 세포주에서 그리고 다양한 DNA damaging 항암제와의 co-treatment에서 sensitization 할 시에, 공통적인 전사인자와 signaling pathways가 존재 하는지를 탐색 할 것임.

: DNA damaging 항암제 또는 antimitotic 항암제의 효과를 증가 시킬 수 있는, 더 많은 새로운 물질의 탐색과 기작 규명에 대한 연구

- 여러 가지 다양한 sources에서 항암 성분을 가지는 물질들을 확보해 왔음.
- 또한 최근의 논문과 경향을 분석해서 항암역할의 가능성을 가지는 물질을 확보해 왔음. 이러한 물질과 기존의 많이 사용되는 항암제와의 co-treatment 후에 combination effect를 가지는 지를 관찰하겠음.
- 이를 위하여 먼저 MTS assay와 microscopic observation을 사용 하여 growth와 viability를 test 하겠음.

: 기존의 많이 사용되는 다양한 항암제와의 co-treatment 후에 combination effect를 가지는 물질을 찾았음.

- 항암제 내성을 가지는 세포를 sensitization 하는 찾아낸 새로운 물질 primaquine, mefloquine, thioridazine의 심층 연구
- primaquine, mefloquine, thioridazine이 다른 종류의 어떠한 종류의 항암제를 sensitization 시키는지에 대한 연구 및 기작 탐색을 위해, 이러한 물질과 기존의 많이 사용되는 항암제와의 co-treatment 후에 combination effect를 가지는 지를 관찰하겠음.

: Akt targeting 항암제뿐만 아니라 다양한 targeting 항암제와 salinomycin의 combination에서 어떠한 결과를 가지는지를 연구

- pAkt 항암제 upstream 및 downstream 항암제와의 combination에서 sensitization 시킬 수 있는 지를 관찰 하겠음.
- HDAC inhibitors, PARP inhibitors 항암제와의 combination에서 sensitization 시킬 수 있는 지를 관찰 하겠음.
- 이를 위하여 MTS assay와 microscopic observation을 사용 하여 growth와 viability를 test 하겠음.

2. 국내외 기술개발 현황

2-1. 국내연구 개발의 필요성

- : 흡연, 술, 음식 등의 다양한 환경적 원인에 의해 국내 암환자의 인구가 급증하고 있음.
- : 또한 고령화, 비만, 늦은 결혼으로 인한 국내 암환자가 많이 증가 되고 있는 추세임.
- : 암을 조기에 발견할 시 수술적 치료가 선행되고 있으나, 수술 후 adjuvant chemotherapy 등의 항암치료를 병행하여 암환자의 재발을 막으려고 하고 있음.
- : 또한 수술이 불가능한 환자의 경우나, 전이가 많이 된 환자, 혈액암환자의 경우는 chemotherapy에 의존을 많이 하고 있으나 재발이 많고 완치가 힘든 추세임.
- : 따라서 새로운 항암제의 개발이 필요함
- : 국내 여건상 새로운 약물을 만드는 것보다, 알려진 약물을 대상으로 좋은 combination을 찾아서 임상에 사용하는 것이 시간이나 재정 면에서 좀 더 세계와 겨룰 수 있을 것으로 보임.
- : 즉, toxicity가 이미 검증 되었으므로 임상에 쉽게 적용이 가능할 것임.

2-2. 현 연구개발의 장점과 실용화 가능성

- : 2009-2012년에 Jnk inhibitor와 salinomycin이 DNA damages를 일으키는 항암제를 sensitization 할 수 있다는 4개의 논문을 발표했다 (Ref. 27-30).
 - 또한 연구책임자의 위의 논문이 최근 다양한 Review 논문 등에서 인용되고 있음.
 - 또한 연구책임자 그룹은 2012년 초에 BBRC 잡지에 salinomycin이 antimetabolic cancer drugs을 sensitization 시킨다는 것을 publish 했고 (Ref. 31), salinomycin의 농도에 따라 암의 sensitization 이 다르다는 것을 보고했음 (Ref. 32).
 - 따라서 본 연구 계획인 "DNA damaging 항암제의 효과를 증가 시킬 수 있는 방법의 개발" 은 경쟁적 있는 분야라고 할 수 있음.
- : 2009년에 Salinomycin이 cancer stem cells을 죽인다는 논문이 Cell 잡지에 발표된 후, 많은 논문이 나오고 있음.
 - 최근에 salinomycin 대한 논문이 다시 한번 "Cell" 잡지 (Sachlos E et al., Cell, 2012) 등에서 나오고 있어서, 이분야가 hot issue 임.
- : 이러한 새로운 항암요법은 임상에서 사용하는 약물위주로 연구가 됨으로 새로운 combination 발견 시 빠른 시일 내에 임상에 적용 가능함.
 - 아직까지 해외에서 이러한 방법을 통한 암환자에 대한 항암 combination 요법이 많이 개발 되지 않는 상태임으로 좋은 combination 요법을 찾는다면 특허와 더불어 국내외에 직접 그리고 빠른 시일 내에 사용될 수 있는 맞춤형 치료를 위한 좋은 토대를 제공할 것임.

3. 연구수행 내용 및 결과

3-1. 항암제 내성세포를 sensitization 시킬수 있는 물질의 탐색

: 항암제 내성세포 종류중, P-glycoprotein overexpression 내성암 (MDR phenotypes)을 극복할 수 있는 방법과 약물 탐색을 위한 네가지 예 (그림3).

: 그림3과 같은 category를 토대로 다양한 종류의 약물을 screening 하였음. 임상약물 또는 개발중인 약물의 효율증가와 내성극복을 위한 이러한 기초연구를 하였음. 결과로 발견된 약물과 조건은 임상에 적용될수 있는 토대를 제공할 것임.

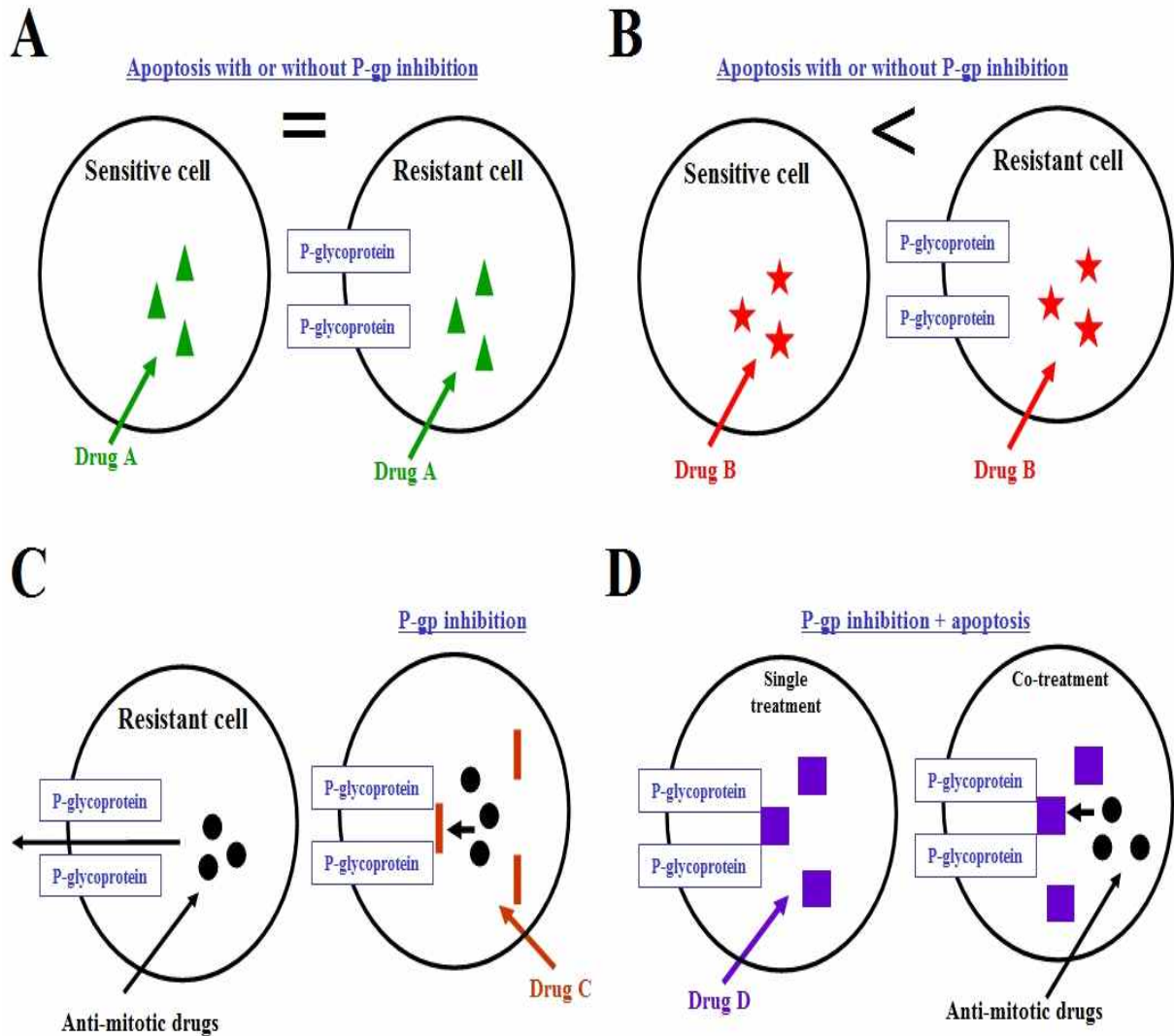


그림 3. Summary of sensitization mechanisms or drugs for P-gp-overexpressing cancer cells resistant to anti-mitotic drugs. (A) Resistant cancer cells that overexpress P-gp can be sensitized by Drug A. The IC50 for Drug A is similar in both sensitive and resistant cancer cells. (B) Resistant cancer cells, which overexpress P-gp, can be sensitized by Drug B. Drug B increases the sensitization of resistant cancer cells more than that of sensitive cells. (C) Resistant cancer cells, which overexpress P-gp, can be sensitized by Drug C. Drug C has only P-gp inhibitory activity. Co-treatment of Drug C with anti-mitotic drugs sensitizes resistant cancer cells via the inhibition of the efflux of anti-mitotic drugs. (D) Resistant cancer cells that overexpress P-gp can be sensitized by single treatment or co-treatment with Drug D, since Drug D has both apoptotic and P-gp inhibitory functions.

3-2. Salinomycin은 pAkt를 증가시킴, 그러나 pp70S6K를 감소시킴

: Salinomycin의 signaling pathways를 보기 위하여 유방암 세포주인 Hs578T 세포주에 12시간 또는 24시간의 salinomycin을 처리하였을 때 변화되는 main signaling pathways에 관련된 단백질들의 활성도를 관찰하였음. 그림 4A-B에서 보는 바와 같이 salinomycin에 의하여, 다른 signaling 단백질에 비해 pAkt의 활성도가 많이 증가되는 것을 볼 수 있었음.

: 하지만 다른 주요한 signaling 단백질인 pJnk1, pp38, pErk, pJak2 등이 변화하지 않는 것을 볼 수 있었음 (그림 4A-B).

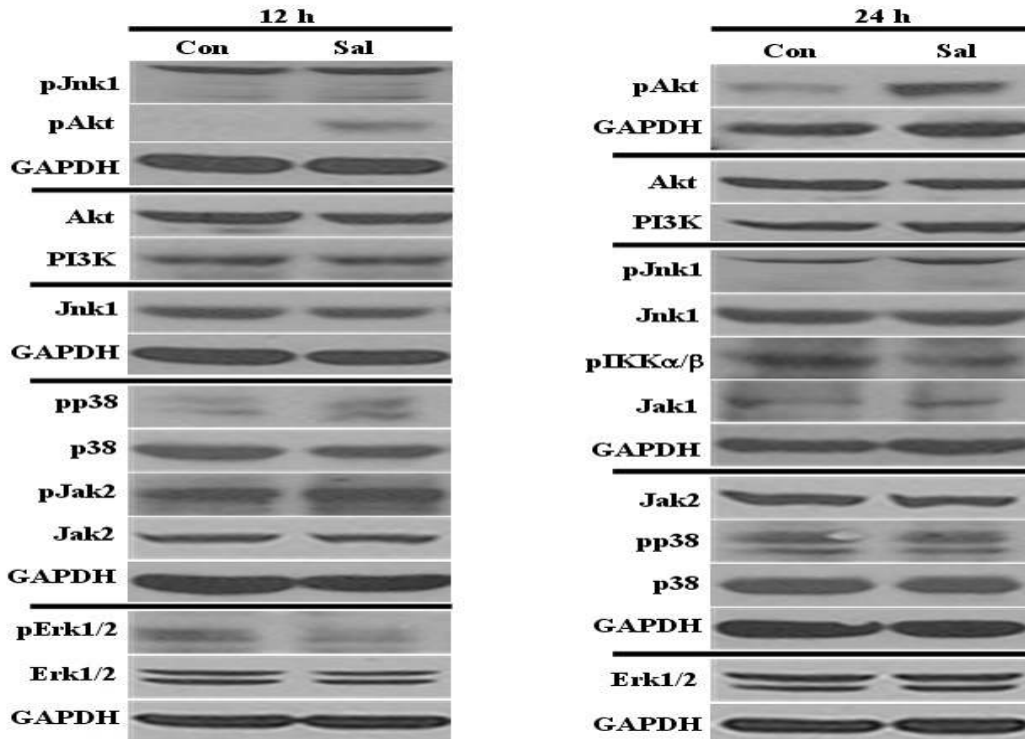


그림 4. 유방암 세포주인 Hs578T에서 Salinomycin (Sal)을 12시간 또는 24시간 동안 처리한 후에 signaling에 관계된 단백질의 활성도를 western-blot으로 관찰함.

: pAkt levels이 증가 되었으므로 PI3K/Akt/mTOR pathways에 있어서도 어떠한 단백질들의 활성도가 변화하는 지를 관찰하였음.

: 그림 5A에서 보는 바와 같이 비록 pAkt는 증가 했지만 pp70S6K 같은 다른 주요한 growth signals은 감소 되는 것을 볼 수 있었음.

: 또한 Salinomycin에 의해서 증가된 pAkt가 PI3K/Akt 경로를 거치는가를 보기 위하여 inhibitors인 LY294002 또는 Wortmannin을 동시에 처리하여 pAkt의 levels을 관찰했음. 그림 5B-5D에서 보는 바와 같이 pAkt levels이 inhibitor와 동시 처리할때 줄어드는 것을 볼 수 있었음. 따라서 PI3K/Akt 경로를 거친다는 결론을 얻을 수 있었음.

: Salinomycin에 의해서 증가된 pAkt의 기능을 관찰하기 위해서 Salinomycin+LY294002의 동시 처리시 세포성장 및 apoptosis가 어떤지를 관찰하였음. 그림 6A-B에서 보는 바와 같이 salinomycin과 Akt inhibitor의 동시 처리시에 세포성장이 줄어들고 또한 C-PARP levels이 증가함을 볼 수 있었음. 따라서 암세포가 salinomycin에 대한 저항성을 증가시키기 위하여 pAkt를 증가 시킨다는 결론을 얻었음.

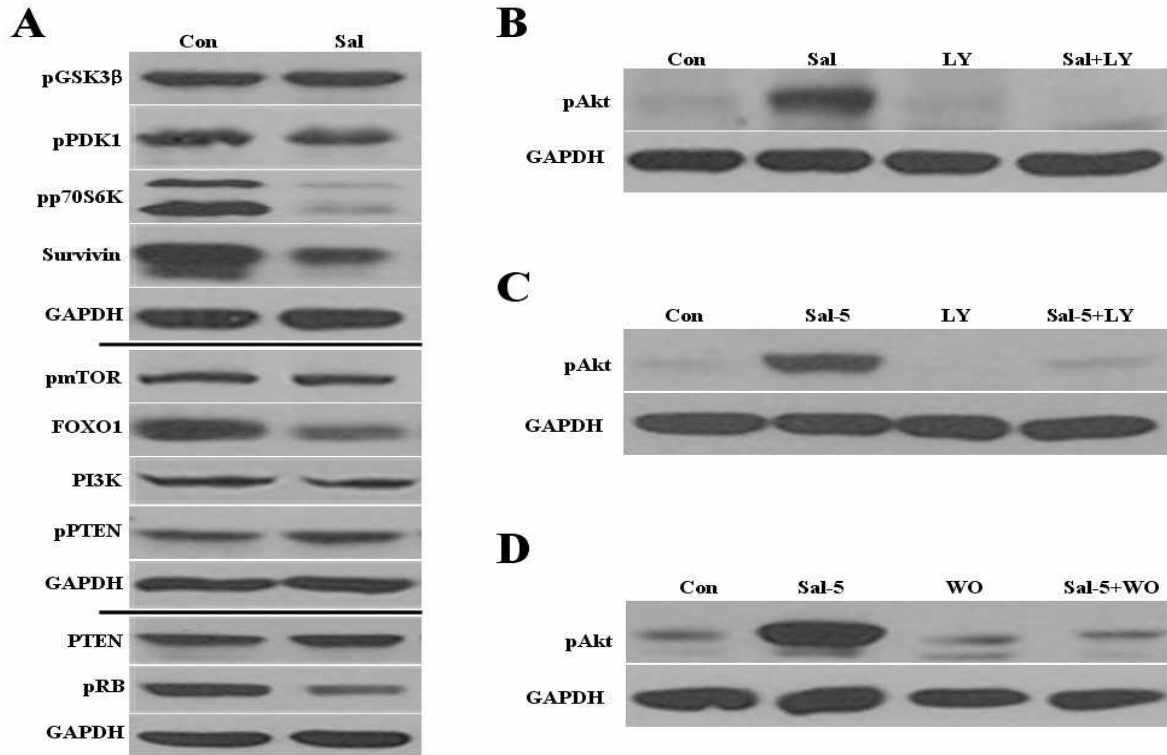


그림 5. (A) 유방암 세포주인 Hs578T에서 Salinomycin을 24시간 동안 처리한 후에 PI3K/Akt/mTOR signaling에 관계된 단백질의 활성도를 western-blot으로 관찰함. (B-D) Salinomycin에 의해 증가된 pAkt가 PI3K/Akt 경로를 거치는가를 보기 위하여 inhibitors인 LY294002 또는 Wortmannin을 동시에 처리하여 pAkt의 levels을 측정함.

: 또한 Salinomycin이 다른 종류의 signaling inhibitors과 동시 처리시에도 apoptosis를 증가 시키는 것을 관찰하였음. 그림 6C에서 보는 바와 같이 p38 inhibitor에서 C-PARP가 증가됨을 볼 수 있었음. 전체적으로 볼 때 salinomycin이 Akt inhibitor인 LY294002와 동시 처리시에 가장 큰 apoptosis를 일으키는 것을 관찰할 수 있었음.

3-3. Salinomycin이 targeting drug인 MK-2206과 co-treatment 시에 sensitization 시킴

: Salinomycin이 일반적인 DNA damaging 항암제나 antimitotic 항암제뿐만 아니라 targeting 항암제에서도 동시 처리 시에 sensitization 효과를 보이는 것을 관찰하였음. Akt에 specific하게 작용하는 MK-2206 항암제를 salinomycin과 동시에 처리 했을 시에 어떠한 결과를 가지는 것을 관찰하였음. 그림 7A-C에서 보는 바와 같이 salinomycin+MK-2206의 경우 pAkt와 Akt levels을 동시에 줄일 수 있는 유리한 점을 발견할 수 있었음.

: Salinomycin+MK-2206 동시 처리할 시에 apoptosis가 어떤지를 관 하였음. 그림 7D에서 보는 바와 같이 동시 처리 시에 synergistic 효과로서 C-PARP가 크게 증가됨을 볼 수 있었음. 이 결과는 Salinomycin+MK-2206 combination이 pAkt와 Akt를 동시에 줄임과 동시에 apoptosis를 증가 시킨다는 결론임. 또한, salinomycin이 targeting drug과도 combination을 할 수 있다는 것을 보여줌.

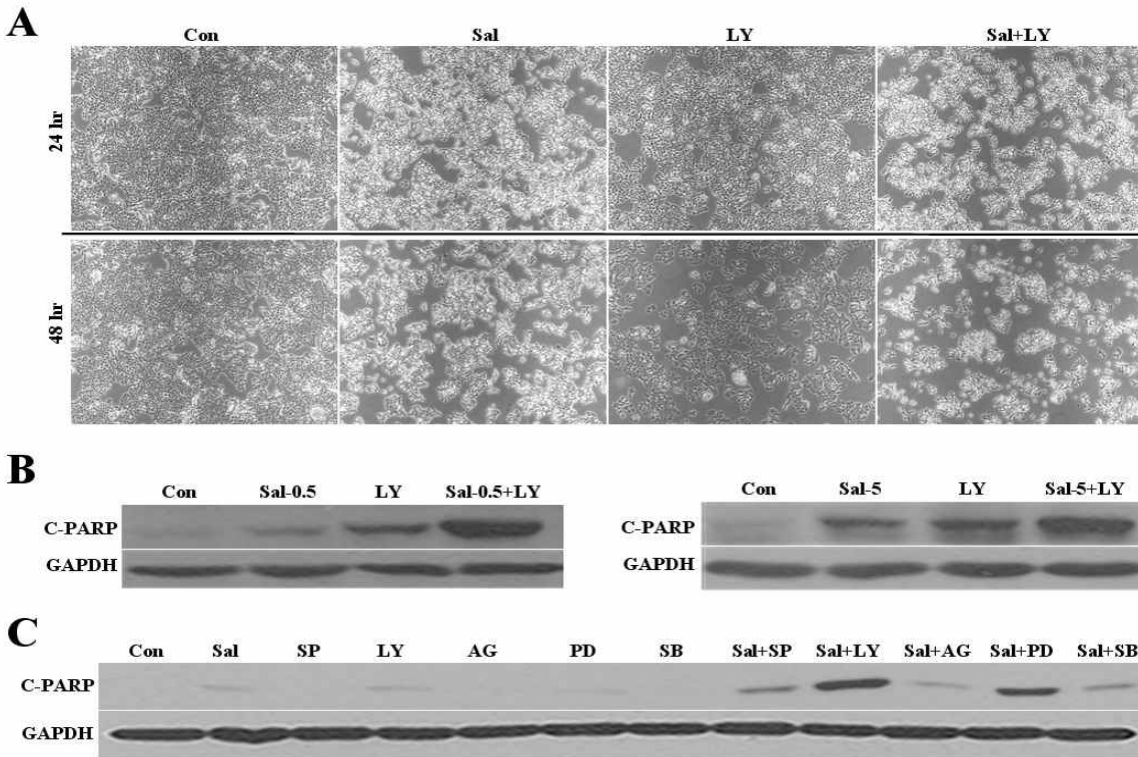


그림 6. (A) 유방암 세포주인 Hs578T에서 Salinomycin+LY294002의 세포성장 효과를 관찰하기 위하여 48시간 동안 처리한 후에 현미경을 통해 세포성장 저해를 측정함. (B) Salinomycin+LY294002의 apoptosis의 증가를 측정하기 위하여 apoptosis에 관계된 C-PARP 단백질을 levels을 측정함. (C) 다른 종류의 inhibitors와 salinomycin의 동시처리가 apoptosis를 얼마나 증가 시키는가를 서로 비교 분석 하였음.

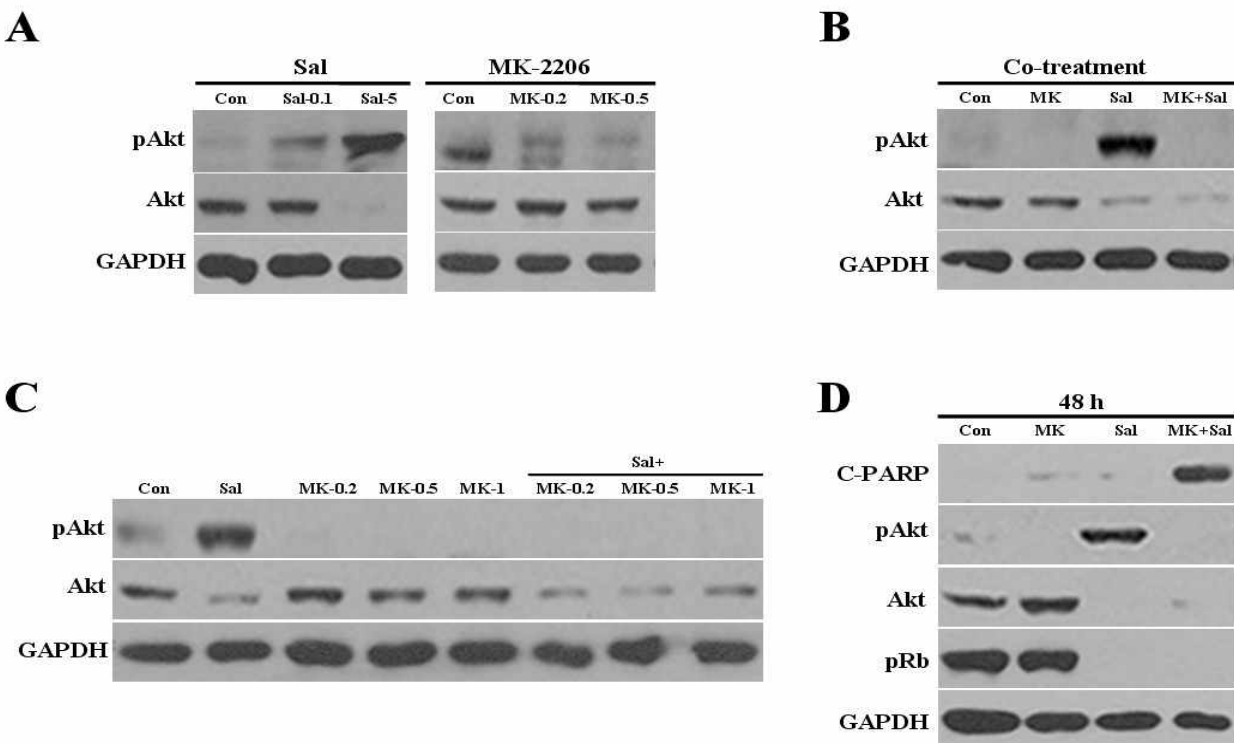


그림 7. (A) 유방암 세포주인 Hs578T에 Salinomycin 또는 MK-2206을 24시간 동안 처리한 후에 pAkt와 Akt의 levels을 western-blot으로 측정함. (B-D) Salinomycin+MK2206에 있어서 pAkt, Akt, pRb, apoptosis에 관계된 C-PARP 단백질을 levels을 측정함.

3-4. Anti-malarial drugs 중 premaquine과 mefloquine이 vinblastine과 co-treatment시 drug-resistance 암세포를 sensitization 시킴

: 항암제 저항 세포인 KBV20C에서 vinblastine과 anti-malarial drugs인 atovaquone (ATO), chloroquine (CHL), primaquine (PRI), mefloquine (MEF), artesunate (ART), and doxycycline (DOY)의 combination이 sensitization할 수 있는 지를 현미경을 통해 관찰하였음. 또한 apoptosis의 증가를 측정하기 위하여 apoptosis에 관계된 C-PARP 단백질을 levels을 측정함.

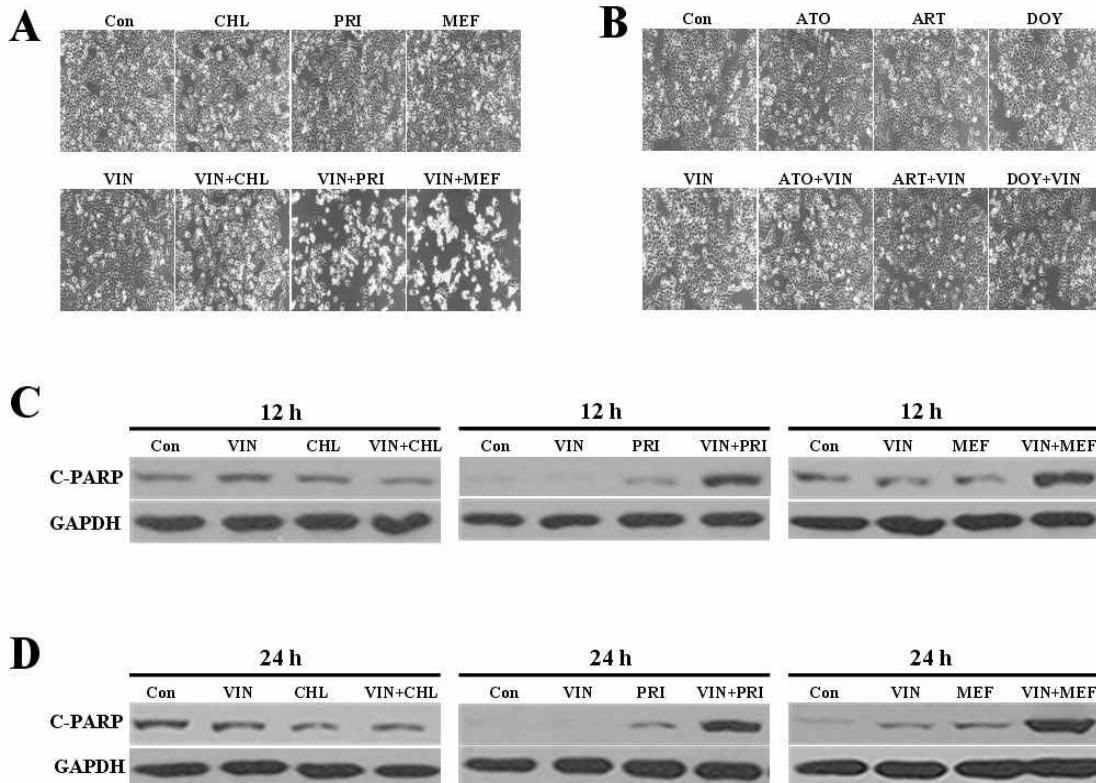


그림 8. (A-D) 항암제 저항 세포인 KBV20C에서 vinblastine과 어떠한 anti-malarial drugs의 combination이 sensitization할 수 있는 지를 현미경을 통해 관찰하였음. 또한 apoptosis의 증가를 측정하기 위하여 apoptosis에 관계된 C-PARP 단백질을 levels을 측정함.

: 그림 8A-D에서 보는 바와 같이 6가지 anti-malarial drugs 중에서 primaquine (PRI), mefloquine (MEF) 과 vinblastine의 동시 처리 시에만 sensitization이 증가함을 볼 수 있었음. 따라서 저항 암세포를 sensitization 할 수 있는 specific한 약물을 찾을 수 있었음.

: 또한 어떠한 기작으로 저항세포의 sensitization을 일으키는지를 분석하였음. 그림 9A-B에서 보는 바와 같이 primaquine (PRI)과 mefloquine (MEF)이 P-gp inhibition을 크게 증가시킴을 볼 수 있었음. 따라서 primaquine (PRI), mefloquine (MEF)의 vinblastine과 동시 처리 시에 sensitization 기작은 P-gp inhibition에 의한 vinblastine의 pumping-out을 막는 것이라고 볼 수 있겠음.

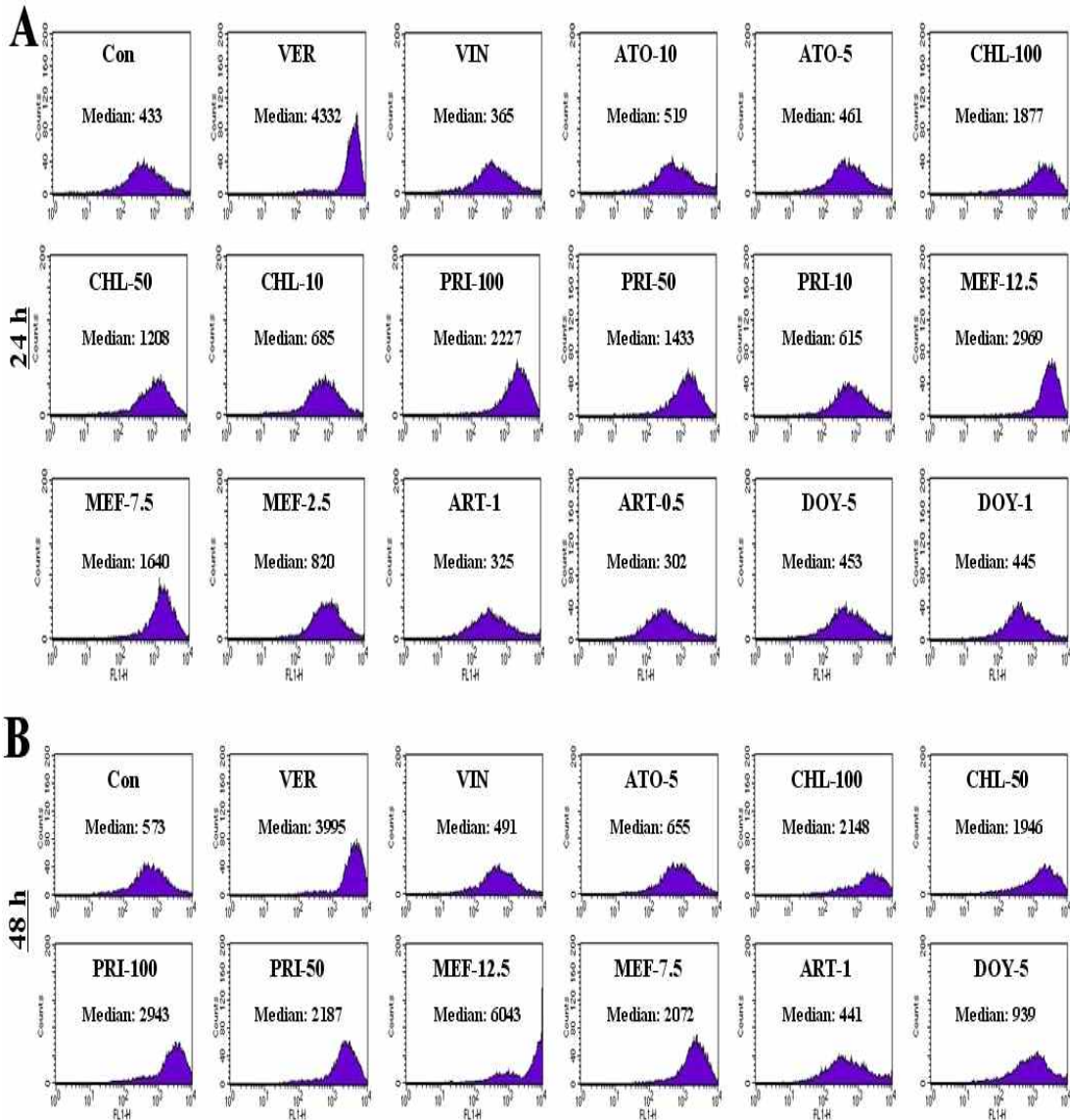


그림 9. (A-B) 항암제 저항 세포인 KBV20C에서 다양한 농도의 anti-malarial drugs을 24시간 또는 48시간 처리한 후 P-gp inhibition을 보기 위하여 Calcein-AM을 처리한 후 staining된 세포를 FACS로 분석했음.

3-5. Jnk inhibitor인 SP600125가 drug-resistance 암세포를 sensitization 시킴

: 항암제 저항 세포인 KBV20C를 sensitization 시키는 물질을 찾으려고 drugs을 탐색하였음. 그림 10A-B에서 보는 바와 같이 SP600125가 KBV20C 저항세포주의 G2 arrest를 유도하고 apoptosis를 증가 시키는 것을 볼 수 있었음.

: 또한 이러한 SP600125의 sensitization은 parent 세포주인 KB에서도 KBV20C와 비슷한 정도로 sensitization함을 볼 수 있었음. 이것은 SP600125의 sensitization기작이 P-gp inhibition과 관련이 없다는 것을 의미하기도 함. 또한 drug-resistant cancer cells과 sensitive cells이 모여 있는 heterogeneous population의 암세포 덩어리에 처리할 시에 두 종류의 암세포에 비슷하게 sensitization시킬 수 있을 것이라는 가정을 세우게도 함.

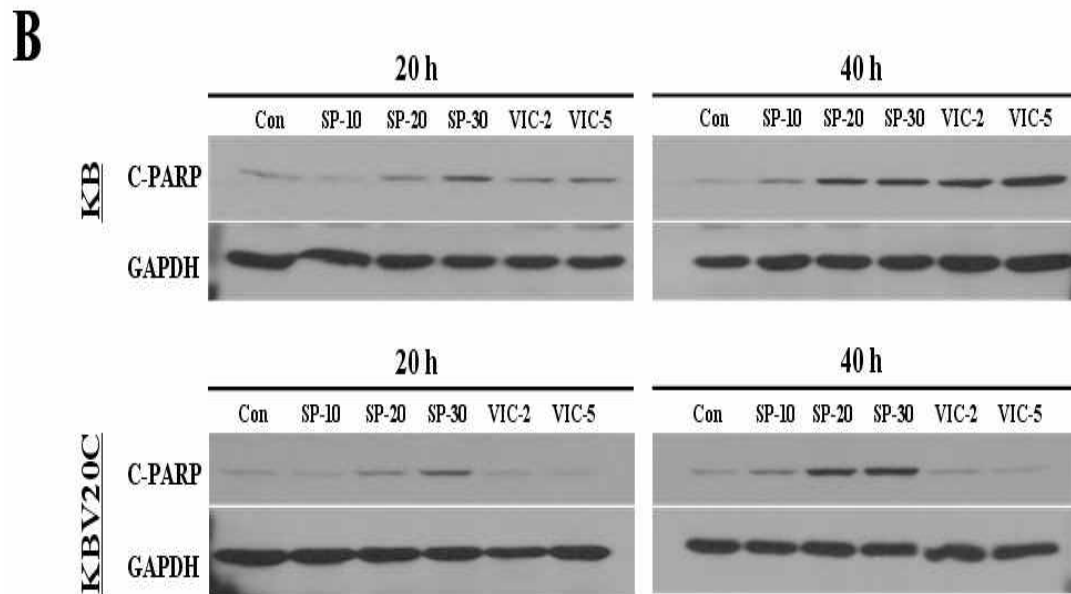
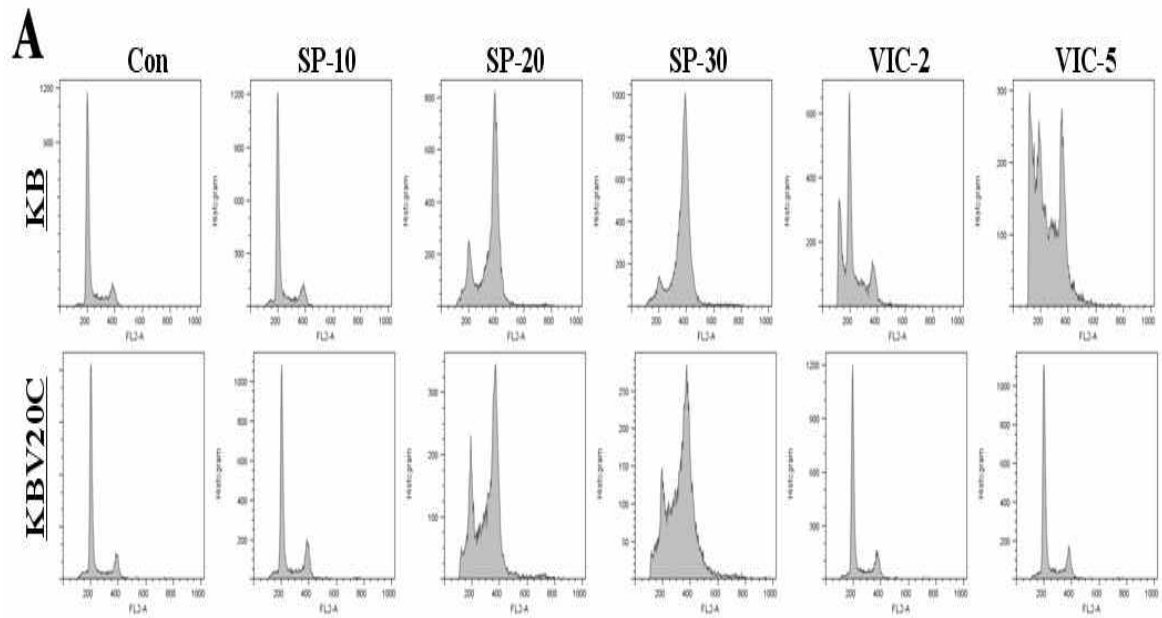


그림 10. (A-B) 항암제 저항 세포인 KBV20C와 항암제-sensitive한 KB parent 세포주에서 Jnk inhibitor인 SP600125 (SP)가 다양한 농도에서 세포주기를 arrest 하는지를 보기 위하여 FACS로 분석했음. 또한 apoptosis의 증가를 측정하기 위하여 apoptosis에 관계된 C-PARP 단백질을 levels을 측정함.

: 항암제 저항 세포인 KBV20C에서 vinblastine과 SP600125의 combination이 sensitization할 수 있는 지를 현미경과 FACS를 통해 관찰하였음. 그림 11A-B에서 보는 바와 같이 다양한 농도에서 SP600125가 vinblastine을 sensitization 시키는 것을 볼 수 있었음.

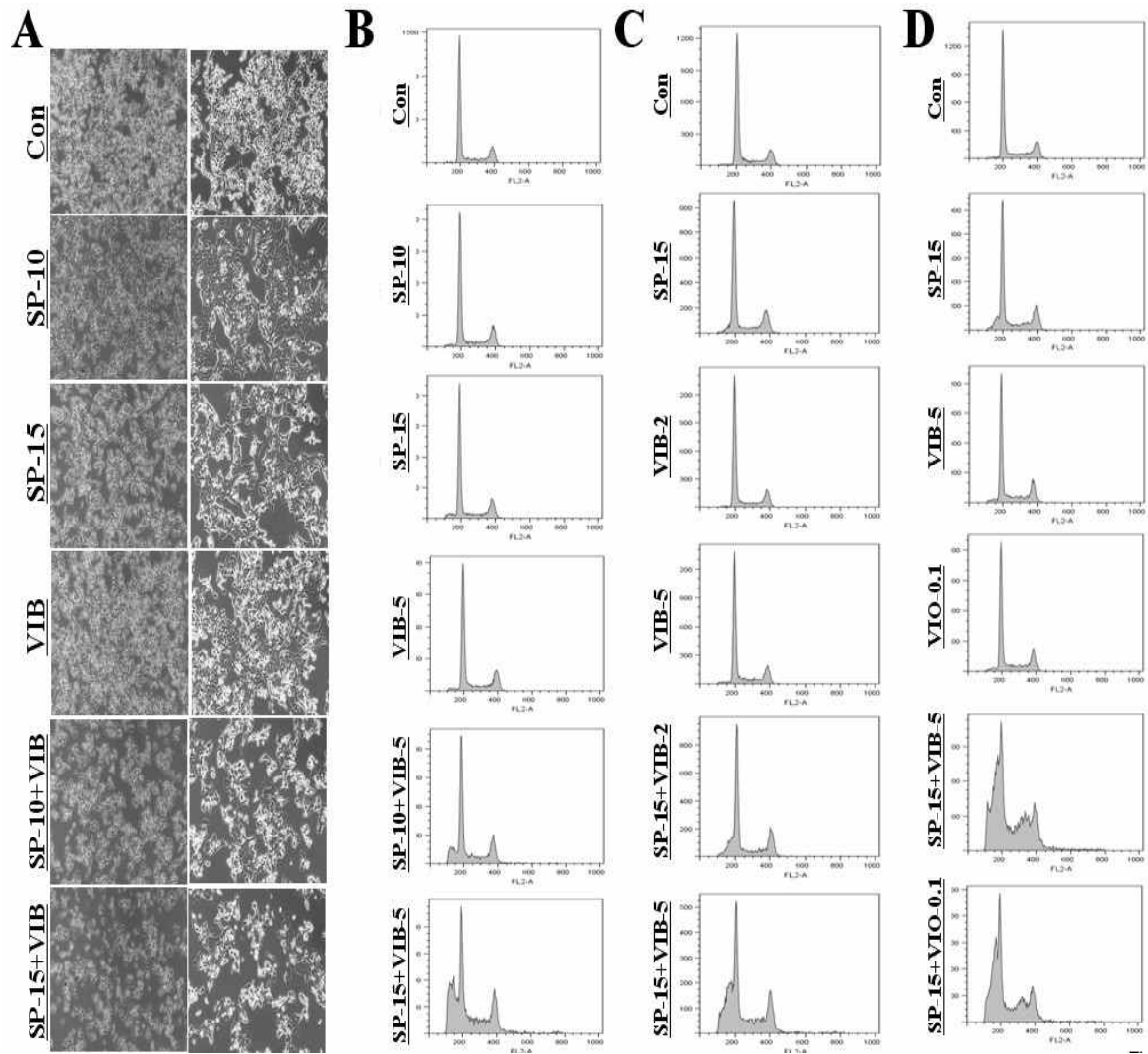


그림 11. (A-B) 항암제 저항 세포인 KBV20C에서 vinblastine과 SP600125의 combination이 다양한 농도에서 sensitization 할 수 있는 지를 현미경을 통해 관찰하였음. 또한 apoptosis의 증가를 측정하기 위하여 FACS를 통해 pre-G1 region을 관찰하였음.

3-6. 항정신제 drug인 thioradizine이, specific하게 drug-resistance 암세포를 sensitization 시킴

: 항암제 저항 세포인 KBV20C를 sensitization 시키는 물질을 찾으려고 탐색하였음. 그림 12A-D에서 보는 바와 같이 다양한 농도에서 thioradizine이 KBV20C의 apoptosis를 크게 증가 시키는 것을 볼 수 있었음. 즉, C-PARP levels (A), Hochest staining (B), FACS analysis (C), Annexin V staining (D)의 모두 다른 techniques에서 똑같이 증가된 apoptosis의 결과를 가질 수 있었음.

: 또한 이러한 thioradizine의 sensitization은 parent 세포주인 KB에서는 비교적 적게 일어남을 볼 수 있었음. 즉, KBV20C에 specific한 drug을 찾을 수 있었음.

: 이 결과는 drug-resistant 암세포에 특이적으로 apoptosis를 증가 시킬 수 있는 물질을 찾을 수 있었다는 데 큰 의미가 있다고 하겠음. 따라서 이 약물의 경우, 내성이 생긴 세포주에 specific하고 정상세포에는 큰 영향을 끼치지 않는 장점이 있을 것으로 기대됨.

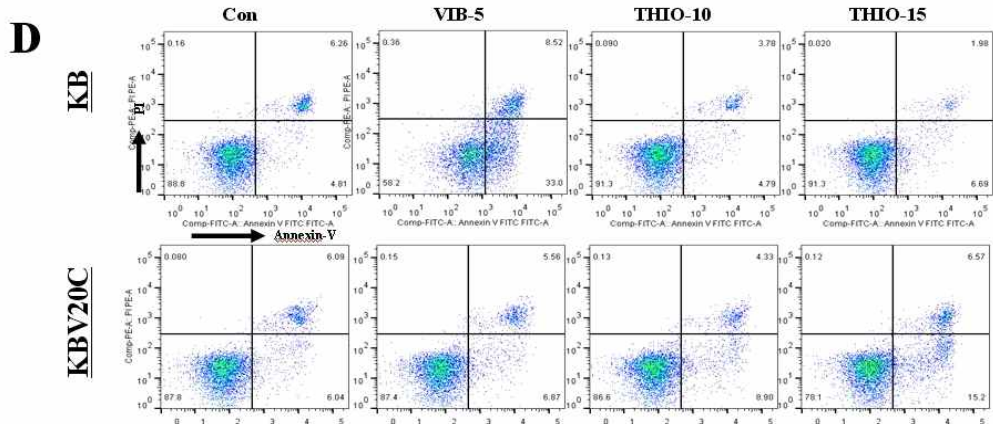
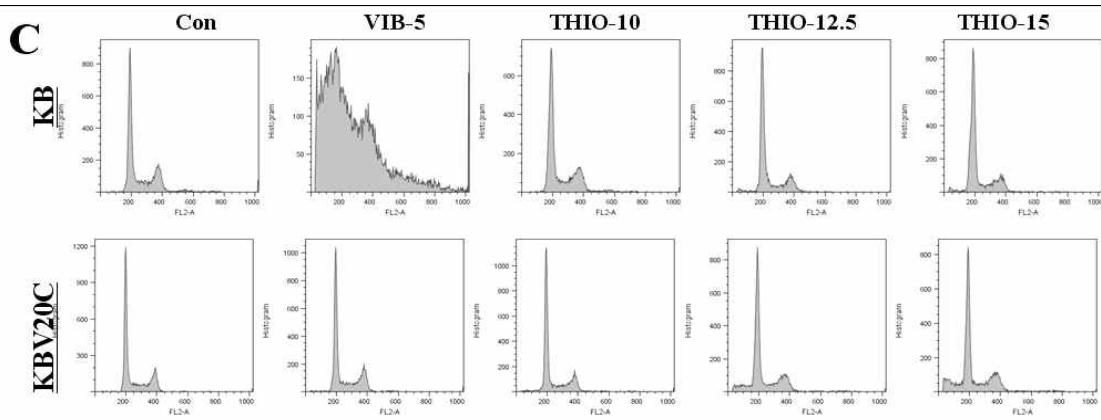
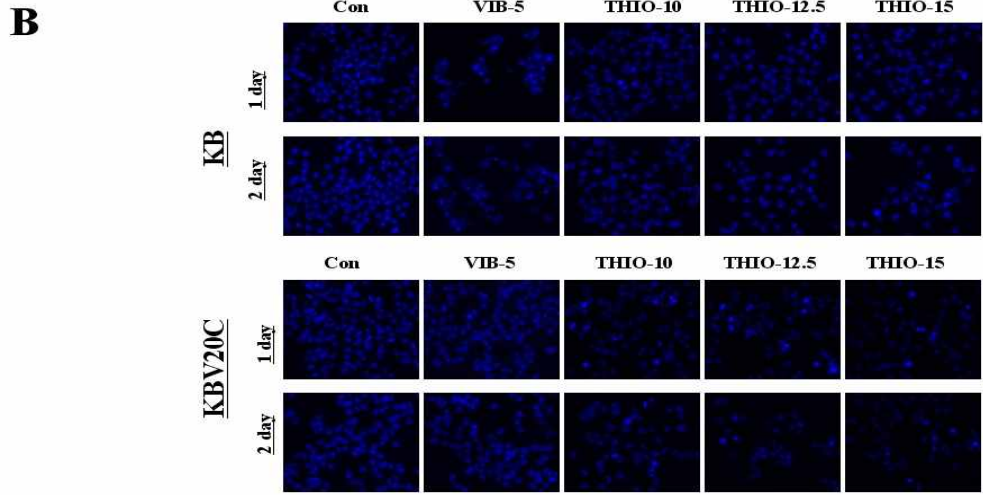
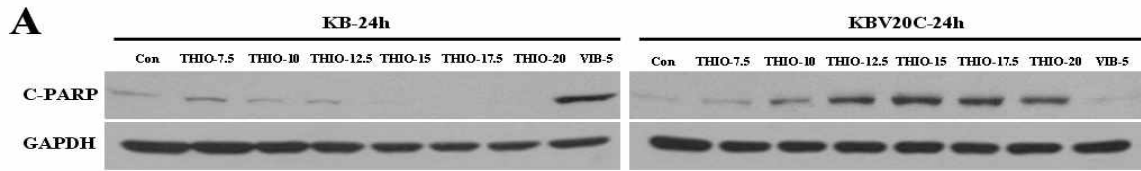


그림 12. (A-D) 항암제 저항 세포인 KBV20C와 sensitive parent 세포주인 KB의 비교를 통하여 다양한 농도의 thioradizine이 두 세포주간에 다른 sensitization을 할 수 있는지를 C-PARP levels (A), Hoechst staining (B), FACS analysis (C), Annexin V staining (D)를 통해 관찰하였음. 이 방법들로 apoptosis의 증가를 측정하였음.

3-7. Salinomycin에 저항성 유방암세포주 생성

: 유방암세포주인 Hs578T를 가지고 salinomycin에 내성인 암 세포주를 만들기 위하여 0.2 μ M의 낮은 농도의 salinomycin으로 시작하여 점차 농도를 증가 시키는 방법으로 3 μ M까지 증가시켜서 6개월 정도까지 키운후 내성 세포주 SAL-Res를 만들었음 (그림13).

: 그림 13A에서 보는 바와 같이 SAL-Res가 parents 세포주인 Hs578T에 비해 salinomycin처리에 저항성을 가지는 것을 볼수 있음. 특히 cell density에 무관하게 salinomycin은 Hs578T세포주의 성장을 못하게 하는 것을 볼수 있음. 하지만 SAL-Res에서는 cell density가 높을수록 약간더 저항성을 가지는 것을 볼수 있었음. 그리고 1day보다는 2 day에서 그 차이가 훨씬 큰 것을 볼수 있었음.

: 또한 그림13B에서 보는 바와 같이 salinomycin의 농도가 증가됨에 따라 SAL-Res의 저항성이 다소 사리지는 것을 볼수 있었음. 결론적으로 salinomycin의 저항성인 세포주를 만들었고, parents 세포주인 Hs578T에 비해 큰차이는 나지 않지만 비교적 저항성인 SAL-Res세포주를 확인했음.

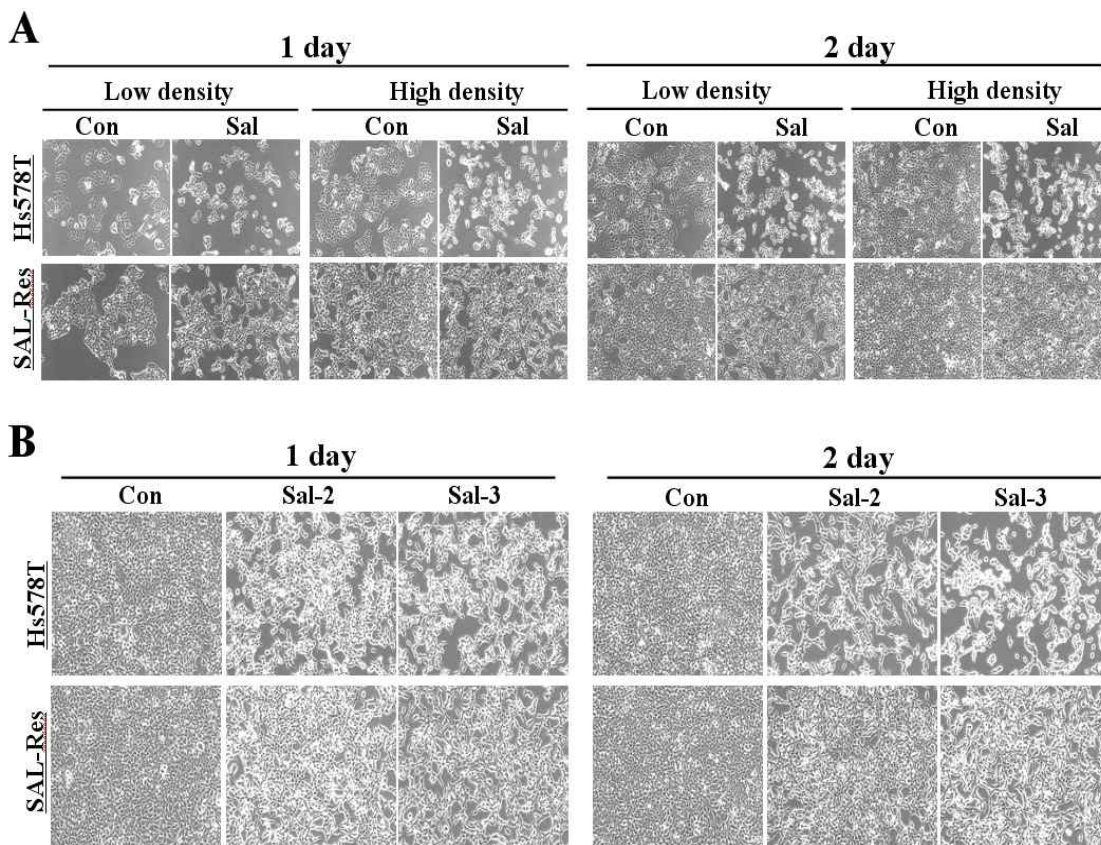


그림 13. 유방암 세포주인 Hs578T와 salinomycin에 내성세포주인 SAL-Res의 저항성을 현미경으로 관찰함. (A) 1 μ M의 salinomycin(Sal)을 처리시 cell density에 따라 성장을 1day와 2day에서 control (Con)과 비교함. (B) 2 μ M (Sal-2), 3 μ M (Sal-3)의 salinomycin을 처리시에 성장을 1day와 2day에서 control (Con)과 비교함.

3-8. Salinomycin에 저항세포주의 특성

: 만들어진 SAL-Res가 parents 세포주인 Hs578T와 어떠한 다른 특징이 있는가를 여러 가지로 비교하였음. 환자에 salinomycin의 임상적용시 일어날 수 있는 저항성세포주에 대한 특징을 미리 살핀다면 clinical하게 이용시 좋은 자료가 될것으로 생각됨.

: 그림14A-B에서 보는 바와같이 Hs578T와 salinomycin에 내성세포주인 SAL-Res의 성장속도를 현미경으로 관

찰했을시에, 비슷 하다는 것을 알수 있었음. 보통 항암제 저항성 세포주의 경우 성장이 늦는 편인데, SAL-Res는 parent 세포주인 Hs578T와 비슷하다는 것을 알수 있었음. 1 day의 경우는 density에 따라 차이가 있지만, 오히려 SAL-Res의 성장속도가 parent보다 다소 빠르다는 것을 볼수 있었음.

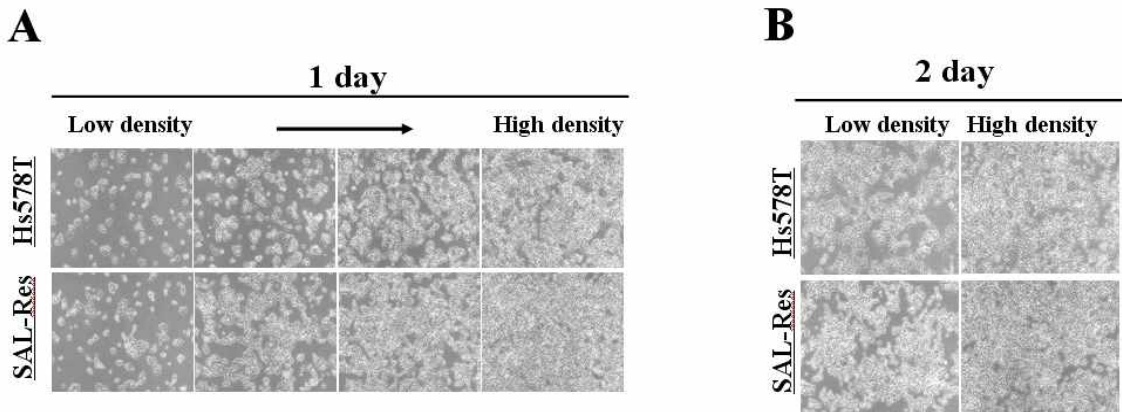


그림 14. 유방암 세포주인 Hs578T와 salinomycin에 내성세포주인 SAL-Res의 성장속도를 현미경으로 관찰함. (A-B) 세포수를 다르게 dish에간후, 두세포주사이의 성장을 1day와 2day에서 비교함.

: 그림15에서 보는 바와같이 유방암 세포주인 Hs578T와 salinomycin에 내성세포주인 SAL-Res의 표면의 부착세기를 현미경으로 관찰했을시에 SAL-Res 세포주는 쉽게 dish 표면에서 떨어지는 것을 볼수 있었음. 특히 세포가 많이 자란상태에서는 더 쉽게 떨어지는 것을 볼 수 있었음. 표면에 부착되는 단백질의 발현이 적을 확률이 큼. 왜냐하면 trypsin처리시에 쉽게 떨어지는 것을 관찰할 수 있었음. 떨어진 세포는 anokis를 통해 죽는 것으로 판단됨.

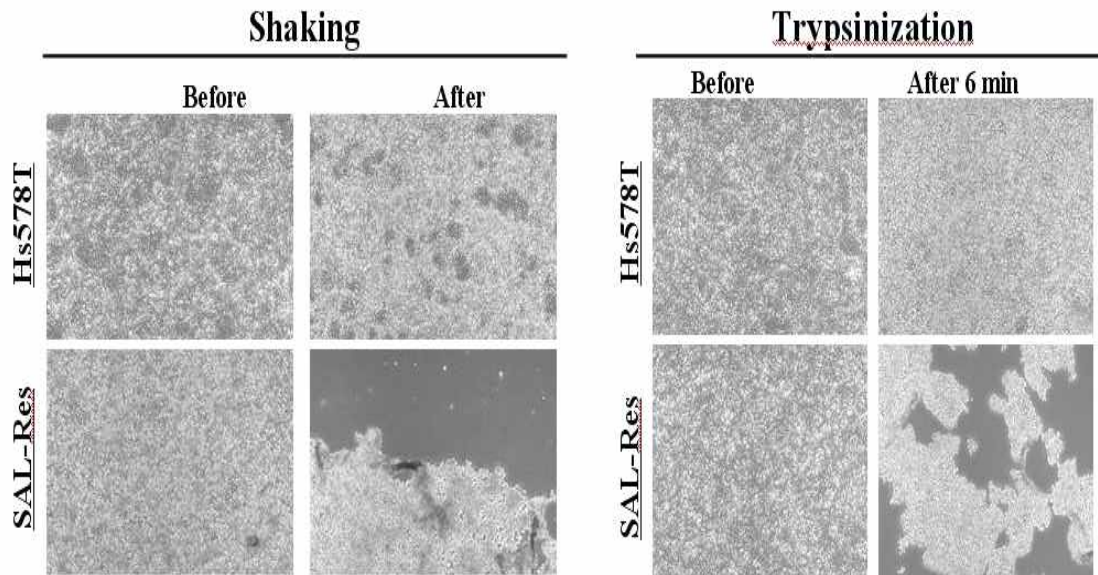


그림 15. 유방암 세포주인 Hs578T와 salinomycin에 내성세포주인 SAL-Res의 표면의 부착세기를 현미경으로 관찰함. Hs578T와 내성세포주인 SAL-Res를 3일 키운후에 (Before), dish를 5-6회 흔든후 (After) 현미경으로 관찰. Hs578T와 내성세포주인 SAL-Res를 2일 키운후에 (Before), trypsin처리 6분후에 (After) 현미경으로 관찰.

: 그림16에서 보는 바와같이 내성세포주인 SAL-Res의 경우 P-gp 능력이 없음이 관찰됨. 즉, substrates에 대한 pumping-out능력이 parent인 Hs578T 세포주와 비슷함을 볼수 있음. 이는 SAL-Res가 salinomycin 저항성을 가질 때, salinomycin의 pumping-out능력과는 상관없다는 것을 의미함.

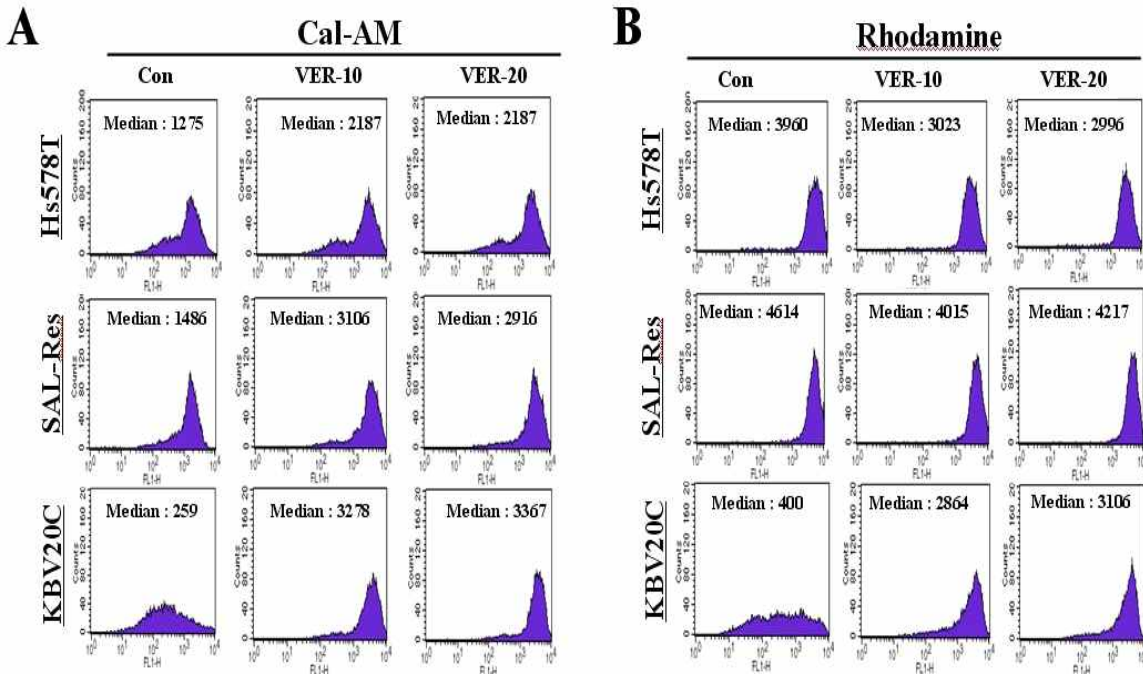


그림 16. 내성세포주인 SAL-Res의 P-gp inhibition 능력을 관찰함. (A-B) Calcein-AM 또는 Rhodamine이라는 substrate를 사용해서 유방암 세포주인 Hs578T와 salinomycin에 내성세포주인 SAL-Res, 그리고 P-gp발현이 높은 KBV20C의 substrate의 pumping-out정도를 관찰함. Positive control으로 10uM 또는 20uM의 verapamil (VER-10, VER-20)을 처리후에, P-gp inhibition능력을 관찰함. Substrates를 처리한 후 staining된 세포를 FACS로 분석했음.

: 그림17에서 보는 바와같이 Hs578T와 salinomycin에 내성세포주인 SAL-Res의 DNA damaging 항암제에 대한 sensitization을 현미경으로 관찰하였음. Hs578T는 salinomycin에 민감하지만, SAL-Res는 저항성을 지님. 하지만 다양한 DNA damaging 항암제인 doxorubicin, etoposide, daunorubicin에 의해서는 비슷하게 sensitization 되는 것을 볼수 있었음. 결론적으로 SAL-Res는 단지 salinomycin에 저항성 특징만을 가졌고, 다른 항암제에 대해서는 parents 세포주와 비슷한 민감도를 가진다는 것을 알수 있었음. 즉, 임상사용시에 salinomycin 저항 세포주가 발생했어도, 쉽게 다른 항암제에 의해 제어될수 있다는 것을 의미함.

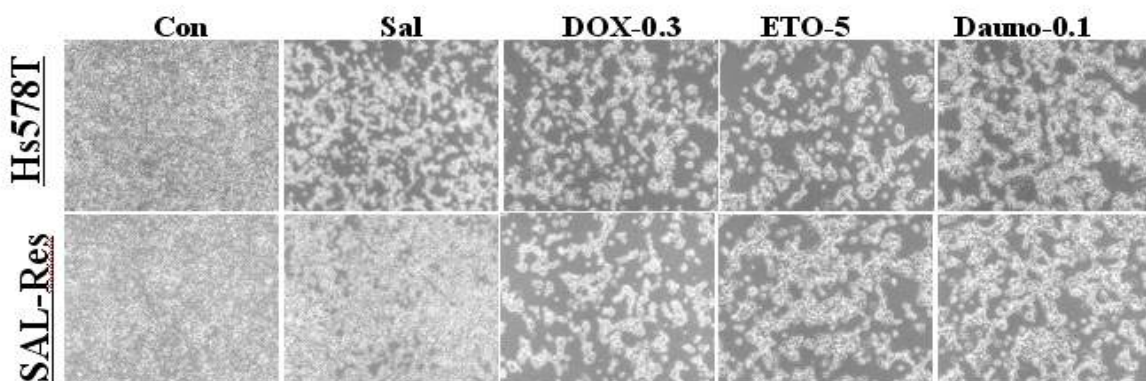


그림 17. 유방암 세포주인 Hs578T와 salinomycin에 내성세포주인 SAL-Res의 다양한 항암제에 대한 sensitization을 현미경으로 관찰함. 2uM의 salinomycin(Sal), 0.3uM의 doxorubicin (DOX-0.3), 5uM의 etoposide (ETO-5), 0.1 uM의 daunorubicin (Dauno-0.1)을 처리한 후 control (Con)과 비교 하였음.

3-9. Selenium drugs 중 selenate가 drug-resistance 암세포를 sensitization 시킴

: 항암제 저항 세포인 KBV20C에서 selenium에 관계된 drugs인 selenate(SAT), selenite(SIT), selenomethioine (SeMet), methyl-selenocystein (MSC), and methaneselenic acid (MSA)가 sensitization할 수 있는 지를 현미경을 통해 관찰하였음.

: 그림 18A-C에서 보는 바와 같이 5가지의 selenium에 관계된 drugs이 비교적 KBV20C를 KB와 비슷하게 성장을 억제하는 것을 볼수 있었음. 하지만 항암제 vincristine에는 KB가 민감한 것을 그림18C에서 볼수 있음. MSA와 MSC는 다소 KBV20C에서는 저항성을 가지는 것을 볼수 있음.

: 5가지 drugs중에서도 특히 specific한 약물로서, selenate가 KB보다는 저항세포인 KBV20C를 더 민감하게 sensitization 할 수 있다는 것을 찾을 수 있었음.

: 항암제 저항 세포인 KBV20C를 sensitization 시키는 작용이 apoptosis와 관계하는지를 보기위하여, FACS analysis와 Annexin V staining을 하였음. 그림 19A-B에서 보는 바와 같이 selenate가 KB보다는 KBV20C에 더 민감하게 작용하는 이유는 apoptosis의 증가에 원인이 있다는 것을 알수 있었음.

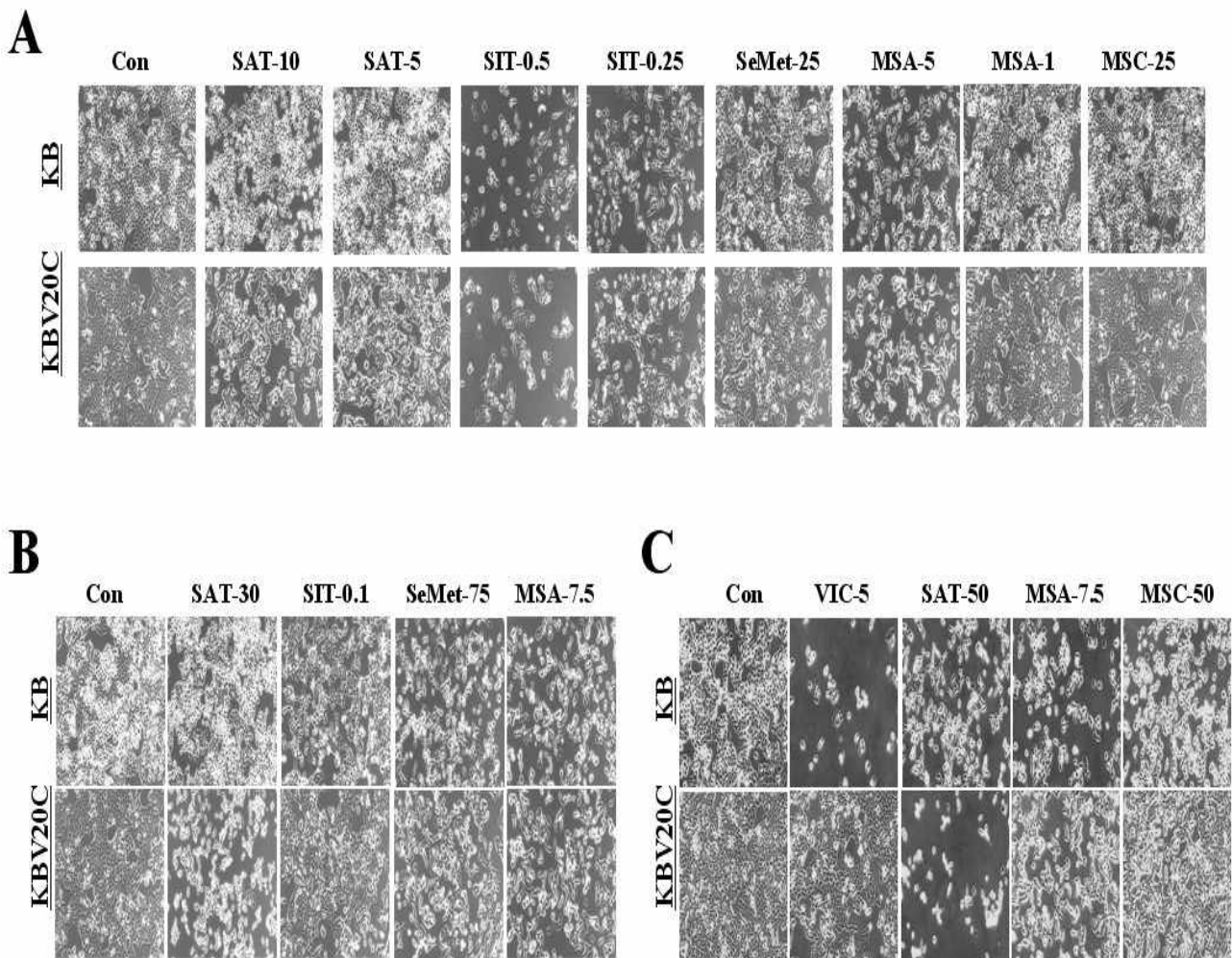


그림 18. (A-C) 항암제 저항 세포인 KBV20C와 항암제-sensitive한 KB parent 세포주에서 다양한 농도의 selenium에 관계된 drugs인 selenate(SAT), selenite(SIT), selenomethioine (SeMet), methyl-selenocystein (MSC), and methaneselenic acid (MSA)가 sensitization할 수 있는 지를 현미경을 통해 관찰하였음. KBV20C가 항암제 저항성인 것을 나타내기 위하여 5uM vincristine (VIC-5)로 sensitive한 세포인 KB에서 비교하였음.

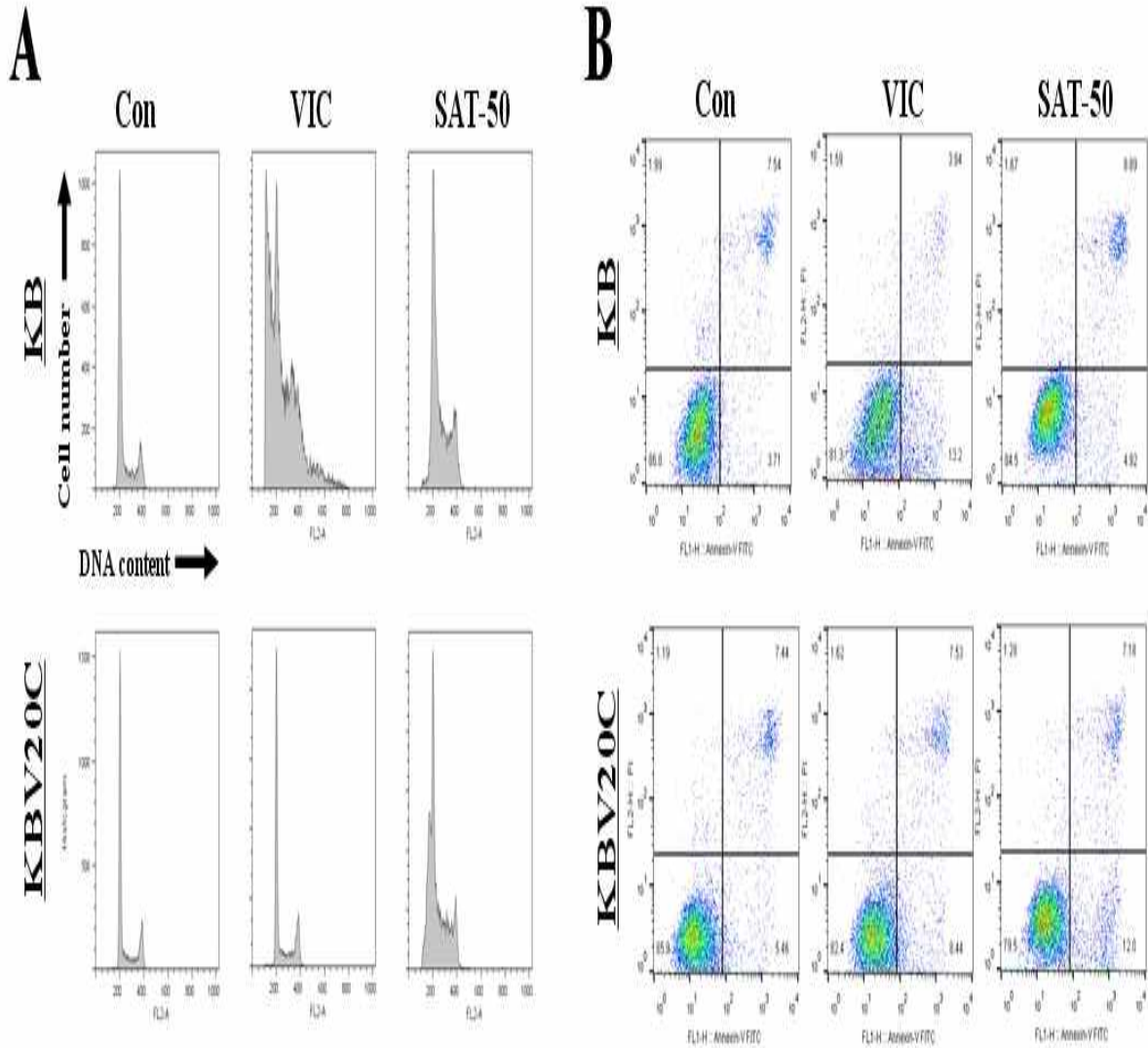


그림 19. (A) 항암제 저항 세포인 KBV20C와 항암제-sensitive한 KB parent 세포주에서 selenate(SAT)에 대한 apoptosis의 증가를 측정하기 위하여 FACS로 Pre-G1을 관찰함. KBV20C가 항암제 저항성인 것을 나타내기 위하여 5uM vincristine (VIC)로 sensitive한 세포인 KB에서 비교하였음. (B) 항암제 저항 세포인 KBV20C와 항암제-sensitive한 KB parent 세포주에서 selenate가 apoptosis를 증가하는지를 보기 위하여 AnnexinV staining을 가지고 FACS로 분석했음. KBV20C가 항암제 저항성인 것을 나타내기 위하여 5uM vincristine (VIC)로 sensitive한 세포인 KB에서 비교하였음.

: 또한 이러한 selenate의 sensitization이 어떠한 기작으로 작용하는지를 보기 위하여 탐색하였음. 그림20에서 보는 바와 같이, selenate에 의해 KBV20C가 G2 arrest가 되는 것을 볼수 있었음. 특히, selenate의 농도가 증가함에 따라 G2 arrest가 더욱 증가함을 알수 있었음. 반면에 selenite에서는 sensitive세포주인 KB가 G2 arrest가 증가함을 알수 있었음. 결론적으로, selenate가 KBV20C를 더욱 sensitive하는 기작은 G2 arrest를 증가시키는 이유에서 비롯된다는 것을 알수 있었음.

: 또 다른 특징으로는, 그림21에서 보는 바와같이 내성세포주인 KBV20C가 selenate를 포함하는 selenium에 관계된 drugs에 의해 P-gp inhibition 능력이 없음이 관찰됨. 결론적으로, selenate가 KBV20C를 sensitization시키는 능력은 P-gp와 관계하지 않는 다른 mechanism이 작용한다는 것을 알수 있었음.

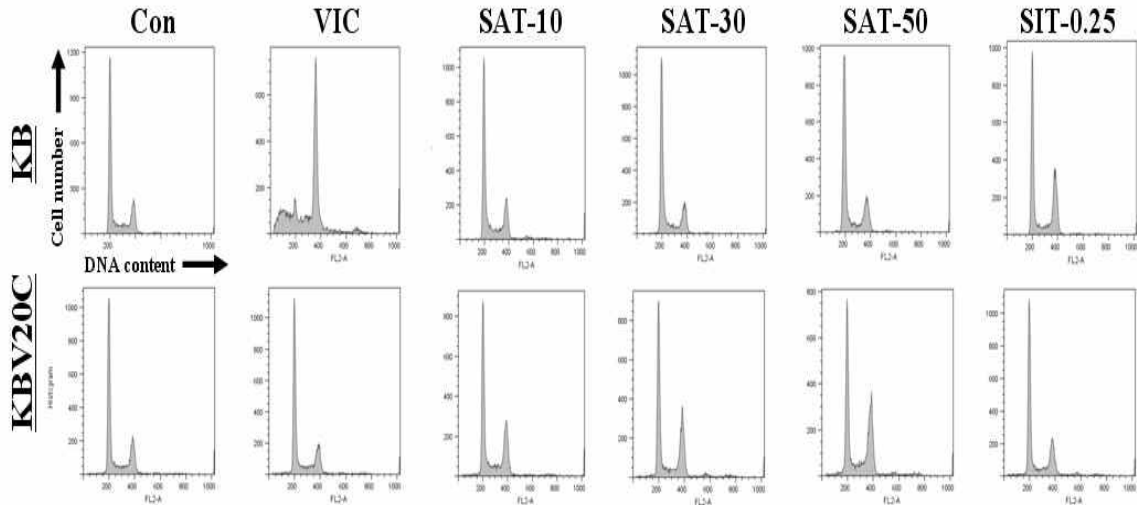


그림 20. 항암제 저항 세포인 KBV20C와 항암제-sensitive한 KB parent 세포주에서 selenate(SAT)가 어떠한 세포주기를 arrest 하는지를 보기 위하여 FACS로 분석했음. KBV20C가 항암제 저항성인 것을 나타내기 위하여 5uM vincristine (VIC)로 sensitive한 세포인 KB에서 비교하였음. Selenite(SIT)로도 비교하였음.

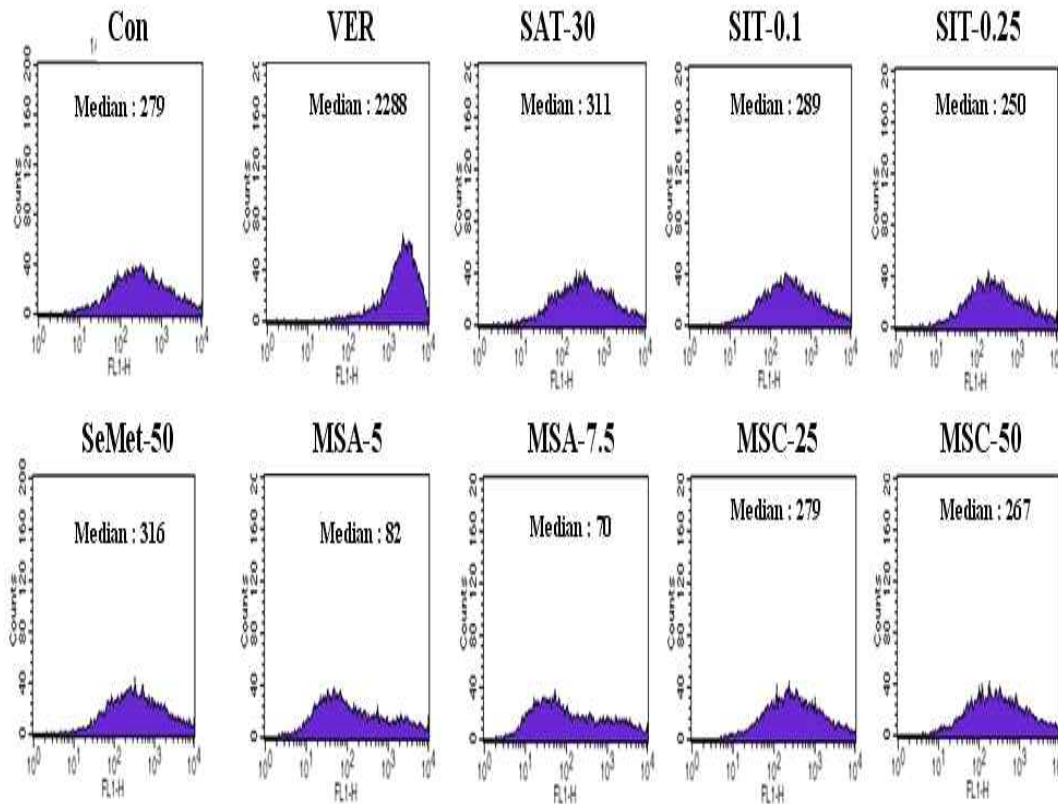


그림 21. 항암제 저항 세포인 KBV20C에서 다양한 농도의 selenium에 관계된 drugs인 selenate(SAT), selenite(SIT), selenomethioine (SeMet), methyl-selenocystein (MSC), and methaneselenic acid (MSA)을 24시간 처리한 후 P-gp inhibition을 보기 위하여 Calcein-AM을 처리한 후 staining된 세포를 FACS로 분석했음. Positive control으로 verapamil (VER)을 처리후에, P-gp inhibition능력을 관찰함.

3-10. 연구결과에 대한 종합적인 Summary

: 그림22에서 보는 바와 같이, 항암제 내성을 일으키는 암세포를 sensitization 할 수 있는 물질들과 새로운 기작을 찾는 연구결과를 얻을 수 있었음. 찾은 물질들은 임상에서 단독처리 또는 항암제 병용처리를 위한 토대를 제공할 수 있을 것으로 예상됨.

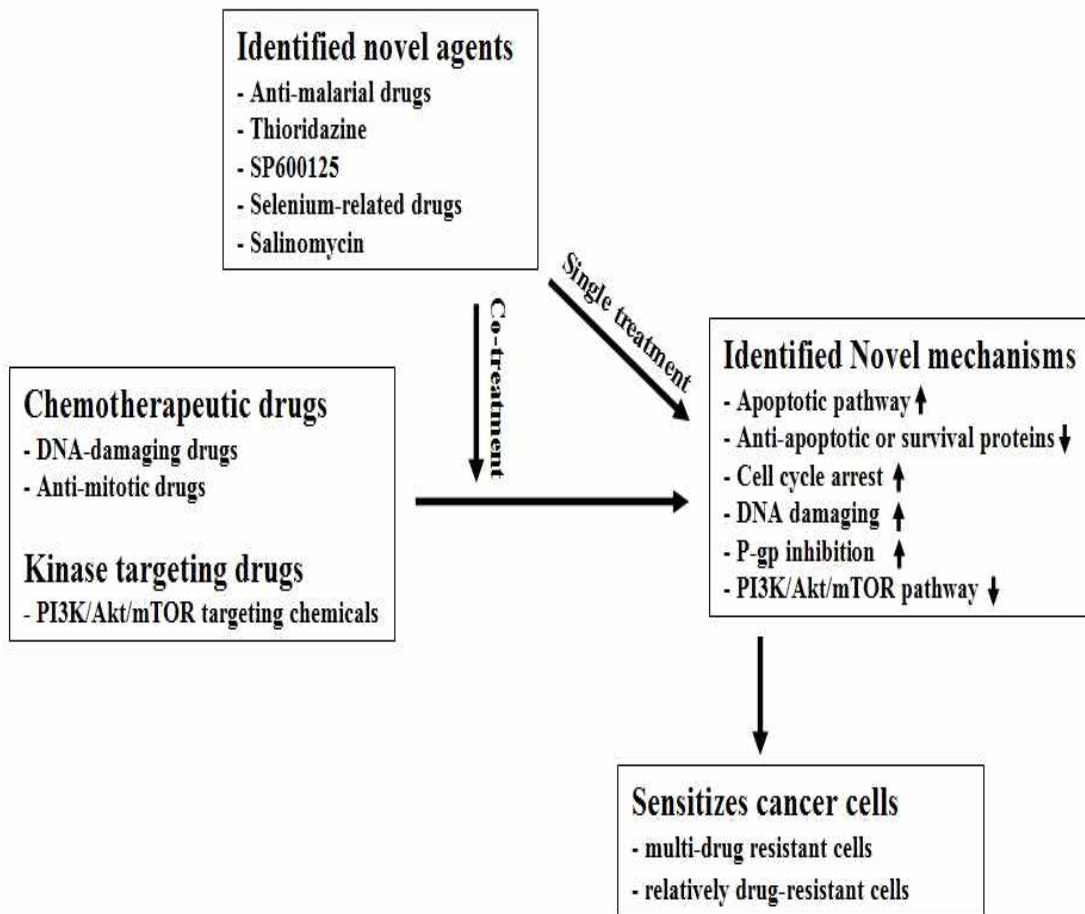


그림 22. Summary of experimental data on sensitizing resistant cancer cells via drug repositioning.

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

4-1. 목표달성도

: 정량적 달성도

- 항암제를 sensitization 할 수 있는 새로운 조건을 이번 연구 기간중 (2013년-2015년)에 7개의 논문을 이미 발표 보고했음. 또한, 2개의 약물관련 review논문을 보고했음. 앞으로 2-4개의 논문을 2016년 내에 submit하기 위해 준비하고 있음.

: 정성적 달성도

목 표	달성도(%)	내 용
<p>: Salinomycin연구 part</p> <ul style="list-style-type: none"> - Salinomycin이 doxorubicin, etoposide에 관계된 DNA damaging 항암제외에 다른 종류의 항암제를 sensitization 시키는 지에 대한 연구 - Salinomycin sensitization과 관계된 전사인자와 signaling pathways의 탐색에 대한 연구 - Salinomycin에 저항적인 내성암세포주를 만드는 연구 - Salinomycin에 대한 내성 세포주를 sensitization 시키는 항암제와 기작 연구 - Salinomycin이 다양한 종류의 targeting항암제를 sensitization 시키는 지에 대한 연구 	90%	<ul style="list-style-type: none"> - 기존의 많이 사용되는 다양한 항암제와 salinomycin의 co-treatment 후에 combination effect를 가지는 지를 관찰했음. 또한 어떠한 항암제와 가장 좋은 combination effect를 가지는 지를 관찰했음 - 만들어진 salinomycin 내성 세포주를 가지고 어떠한 항암제에 의해 sensitization 되는지 그리고 얼마나 효과적인지, 어떠한 항암제가 가장 좋은지를 연구했음. DNA damaging 항암제 외에 antimitotic 항암제, targeting 항암제까지도 관찰했음. - 저항적인 암세포를 만들었고, 새로운 특징을 발견했음. DNA damaging 항암제에 의해 sensitization된다는 것을 알았음. Salinomycin에 저항적인 암세포가 P-gp pathway와는 무관하다는 것을 알 수 있었음. - Akt targeting 항암제뿐만 아니라 다양한 targeting 항암제와 salinomycin의 combination에서 어떠한 결과를 가지는지를 관찰했음. - Salinomycin이 targeting drug (AZD5363와 MK2206)과 co-treatment 시에 sensitization 시키는 결과를 얻었음.
<p>: 새로운물질 탐색 part</p> <ul style="list-style-type: none"> - DNA damaging 항암제 또는 antimitotic 항암제의 효과를 증가시킬 수 있는, 더 많은 새로운 물질의 탐색과 기작 규명에 대한 연구 - 항암제 내성을 가지는 세포를 sensitization 하는 찾아낸 새로운 물질 primaquine, mefloquine, thioridazine의 심층 연구 		<ul style="list-style-type: none"> - 여러 가지 다양한 sources에서 항암 성분을 가지는 물질들을 확보해 왔음. 또한 최근의 논문과 경향을 분석해서 항암역할의 가능성을 가지는 물질을 확보해 왔음. 이러한 물질과 기존의 많이 사용되는 항암제와의 co-treatment 후에 combination effect를 가지는 지를 관찰했음. - 또한, 임상에 사용되고 있는 non-cancer drugs인 selenate가 drug-resistant 암세포주를 sensitization하는 것을 알 수 있었음.

4-2. 관련분야 기여도

- : DNA damaging 항암제에 관계된 새로운 조건과 유전자의 발견은 새로운 항암제 개발 또는 임상에서 combination-chemotherapy의 이용에 큰 도움이 될 것임.
- : 즉 본 과제에서 얻어진 결과는 combination-chemotherapy에 있어서 DNA damaging 항암제의 좋은 partner 선택에 큰 기여를 할 것임. 뿐만 아니라 DNA damaging 항암제의 DNA damages를 늘리는 선택에 기여할 것임.
- : DNA damaging 항암제 또는 antimitotic 항암제가 관여하는 새로운 targets의 발견은 DNA damage 또는 antimitotic 항암제를 증가 시킬 수 있는 항암제 개발을 위한 새로운 표적 분자를 제공하게 되고, DNA damaging 항암제 또는 antimitotic 항암제의 효율을 높이는 물질, 조건, 기작을 밝혀 암의 치료를 위한 새로운 초석을 마련할 것임.
- : DNA damaging 항암제에 대한 DNA damages를 증가 시키는 기작과 내성 기작에 대한 정확한 정보를 제공할 것임.
- : DNA damaging 항암제에 관여하는 새로운 targets의 발견은 항암제 개발을 위한 새로운 표적 분자를 제공할 것임.
- : DNA damaging 항암제에 대한 예후를 예측하게 하는 분자적 표지 (markers)를 제공 할 것임.
- : 논문 등의 결과물은 DNA damaging 항암제 또는 antimitotic 항암제의 새로운 mechanisms을 규명하는데 도움을 줄 것으로 예상됨.

5. 연구결과의 활용계획

- : P-gp overexpression 내성극복에 관계된 새로운 약물과 기작의 개발은 기존의 항암제 내성극복에 있어서 새로운 방법을 제시할 것으로 사료됨.
- : 많은 종류의 암에서 문제가 되는 AP-gp overexpression 내성극복에 관계된 약물 combination이 개발된다면 많이 사용될 것임.
- : 암 치료에 있어서 P-gp overexpression 내성극복에 관계된 다양한 signaling 단백질을 억제할수 있는 맞춤형치료의 토대를 제공할 것임.
- : 이러한 새로운 항암요법은 임상에서 사용하는 약물위주로 연구가 됨으로 새로운 combination 발견시 빠른 시일 내에 임상에 적용 가능함.
- : 즉, toxicity가 이미 검증 되었으므로 임상에 쉽게 적용이 가능할 것임.
- : 아직까지 해외에서 이러한 방법을 통한 암환자에 대한 항암 combination 요법이 많이 개발 되지 않는 상태임으로 좋은 combination 요법을 찾는다면 특허와 더불어 국내외에 직접 그리고 빠른 시일내에 사용될 수 있는 맞춤형 치료를 위한 좋은 토대를 제공할 것임.
- : 따라서 본 연구 결과는 해외에서도 인정받고 관심을 가질 것으로 예상함.

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

- Toxicity가 이미 검증된 약물들을 repositioning drugs로 개발하여, 암세포에 적용하고 있음.
- 근래에는 맞춤형으로 암환자를 치료 하려고 하고 있음. 특히, 암세포의 특징에 따라 specific한 특징을 찾아서 이러한 약물들을 빠른 시일내에 임상에 적용하는 것을 알 수 있었음.
- 암환자의 잘못된 유전자나 단백질에 대한 타겟 therapy 항암제가 많이 개발되고 있음.
- 환자에게 맞춤형 치료로 개발된 signaling pathway 타겟 항암요법이 많이 쓰이고 있음. 하지만

signaling pathway항암제 대한 내성이 생기므로 새로운 signaling pathway를 타겟으로 하는 항암제의 새로운 개발이 활발하게 일어나고 있음.

- 많은 종류의 암에서 과발현된 pathway의 전후단계를 동시에 없애는 약물 combination이 개발되고 시도 되고 있음.

- 특정 항암제를 처리시 내성암세포가 생성되는데, 그 기작중 다른 pathway 단백질을 높이는 방법도 있으므로 이것을 같이 차단하는 방법이 시도 되고 있음. 즉, 두가지 이상의 타겟 drugs을 같이 사용하는 combination-therapy이 임상에서 많이 시도 되고 있음.

7. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/특허/기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관 명	역할	논문게재지/ 특허등록국가	Impact Factor	논문게재 일 /특허등록 일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부 /인용횟 수 등)
1	논문	Low amount of salinomycin greatly increases Akt activation, but reduces activated p70S6K levels	국립 암센 터	교신	International journal of molecular sciences	2.464	2013-08-22	단독사사 (NCC0910170)	SCIE
2	논문	Co-treatment with the anti-malarial drugs mefloquine and primaquine highly sensitizes drug-resistant cancer cells by increasing P-gp inhibition	국립 암센 터	교신	Biochemical and biophysical research communications (BBRC)	2.406	2013-11-22	단독사사 (NCC1310210 -> NCC1310120 으로 논문에 잘못 기재)	SCI
3	논문	SP600125 overcomes antimitotic drug-resistance in cancer cells by increasing apoptosis with independence of P-gp inhibition	국립 암센 터	교신	European Journal of Pharmacology	2.684	2014-01-15	단독사사 (NCC0910170)	SCI
4	논문	Sensitization of cancer cells through reduction of total Akt and downregulation of salinomycin-induced pAkt, pGsk3 β , pTSC2, and p4EBP1 by cotreatment with MK-2206	국립 암센 터	교신	BioMed research international	2.706	2014-07-08	단독사사 (NCC1310210)	SCIE

번호	구분 (논문/특허/기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관 명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/ 인용횟수 등)
5	논문	Thioridazine specifically sensitizes drug-resistant cancer cells through highly increase in apoptosis and P-gp inhibition	국립 암센터	교신	Tumour biology	2.84	2014-10-01	단독사사 (NCC1310210)	SCI
6	논문	Co-treatment of Salinomycin Sensitizes AZD5363-treated Cancer Cells Through Increased Apoptosis	국립 암센터	교신	Anticancer Research	1.872	2015-06-29	단독사사 (연구재단; NRF-2014R1A1 A2056690)	SCI
7	논문	Selenate specifically sensitizes drug-resistant cancer cells by increasing apoptosis via G2 phase cell cycle arrest without P-gp inhibition	국립 암센터	교신	European Journal of Pharmacology	2.85	2015-07-03	단독사사 (NCC1310210)	SCI
8	논문	Research Highlight: A single treatment of Selenate, a repositioning drug, specifically sensitizes P-gp-overexpressing resistant cancer cells.	국립 암센터	교신 (단독 저자)	Cancer Cell & Microenvironment	없음	2015-08-25	단독사사 (NCC1310210)	
9	논문	EDITORIAL: Drug repositioning for cancer therapy: Overview of my current research.	국립 암센터	교신 (단독 저자)	Edorium J Cancer	없음	In press	단독사사 (NCC1310210)	

8. 참여연구원 현황

번호	소속기관명	직위	생년월일	전공 및 학위		연구담당 분야
	성명	과학 기술인등록 번호	성별	취득 년도	학위 (전공)	과제참여 기간

9. 기타사항

10. 참고문헌

- [1] L. Biganzoli, A. Minisini, M. Apro, A. Di Leo, Chemotherapy for metastatic breast cancer, Curr. Opin. Obstet. Gynecol. 16 (2004) 37-41.
- [2] J.M. Llovet, Updated treatment approach to hepatocellular carcinoma, J. Gastroenterol. 40 (2005) 225-235.
- [3] I. Ali, U. Rahis, K. Salim, M.A. Rather, W.A. Wani, A. Haque, Advances in nano drugs for cancer chemotherapy, Curr. Cancer. Drug. Targets. 11 (2011) 135-146.
- [4] J.B. Vermorken, P. Specenier, Optimal treatment for recurrent/metastatic head and neck cancer, Ann. Oncol. 21 (2010) Suppl 7:vii252-261.
- [5] R.O. Dillman, N.M. Barth, L.A. VanderMolen, K. Allen, L.D. Beutel, S. Chico, High-dose chemotherapy and autologous stem cell rescue for metastatic breast cancer: superior survival for tandem compared with single transplants, Am. J. Clin. Oncol. 28 (2005) 281-288.
- [6] C.J. Hsiao, T.K. Li, Y.L. Chan, L.W. Hsin, C.H. Liao, C.H. Lee, P.C. Lyu, J.H. Guh, WRC-213, an l-methionine-conjugated mitoxantrone derivative, displays anticancer activity with reduced cardiotoxicity and drug resistance: identification of topoisomerase II inhibition and apoptotic machinery in prostate cancers, Biochem. Pharmacol. 75 (2008) 847-856.
- [7] H. Thomadaki, A. Scorilas, Molecular profile of breast versus ovarian cancer cells in

response to treatment with the anticancer drugs cisplatin, carboplatin, doxorubicin, etoposide and taxol, *Biol. Chem.* 389 (2008) 1427–1434.

[8] Y. Pommier, E. Leo, H. Zhang, C. Marchand, DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs, *Chem. Biol.* 17 (2010) 421–433.

[9] J.A. Ajani, Optimizing docetaxel chemotherapy in patients with cancer of the gastric and gastroesophageal junction: evolution of the docetaxel, cisplatin, and 5-fluorouracil regimen, *Cancer*. 113 (2008) 945–955.

[10] P. Chakraborty, U.H. Sk, S. Bhattacharya, Chemoprotection and enhancement of cancer chemotherapeutic efficacy of cyclophosphamide in mice bearing Ehrlich ascites carcinoma by diphenylmethyl selenocyanate, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 64 (2009) 971–980.

[11] C.E. Humber, J.F. Tierney, R.P. Symonds, M. Collingwood, J. Kirwan, C. Williams, J.A. Green, Chemotherapy for advanced, recurrent or metastatic endometrial cancer: a systematic review of Cochrane collaboration, *Ann. Oncol.* 18 (2007) 409–420.

[12] V.G. Kaklamani, W.J. Gradishar, Adjuvant therapy of breast cancer, *Cancer Invest.* 23 (2005) 548–560.

[13] F. Van Valen, S. Fulda, K.L. Schäfer, B. Truckenbrod, M. Hotfilder, C. Poremba, K.M. Debatin, W. Winkelmann, Selective and nonselective toxicity of TRAIL/Apo2L combined with chemotherapy in human bone tumour cells vs. normal human cells, *Int. J. Cancer* 107 (2003) 929–940.

[14] Kawabe T. G2 checkpoint abrogators as anticancer drugs. *Mol Cancer Ther* 2004;4: 513–9.

[15] Solier S, Sordet O, Kohn KW, Pommier Y. Death receptor-induced activation of the Chk2- and Histone H2AX-associated DNA damage response pathways. *Mol Cell Biol* 2009;1:68–82.

[16] C.J. Sherr, F. McCormick, The RB and p53 pathways in cancer, *Cancer Cell* 2 (2002) 103–112. p53 and novel target for cancer therapeutics, *Clin. Cancer Res.* 14 (2008) 5000–5005.

[17] S. Maddika, et al. Cell survival, cell death and cell cycle pathways are interconnected: implications for cancer therapy, *Drug Resist.Updat.* 10 (2007) 13–29.

[18] A.M. Abukhdeir, B.H. Park, p21 and p27: roles in carcinogenesis and drug resistance, *Expert. Rev. Mol. Med.* 10 (2008) e19.

[19] R.H. Weiss, p21Waf1/Cip1 as a therapeutic target in breast and other cancers, *Cancer Cell* 4 (2003) 425–429.

[20] S.H. Park, X. Wang, R. Liu, K.S. Lam, R.H. Weiss, High throughput screening of a small molecule one-bead-one-compound combinatorial library to identify attenuators of p21 as chemotherapy sensitizers, *Cancer Biol. Ther.* 7 (2008) 2015–2022.

[21] Ohtsuka T, Buchsbaum D, Oliver P, Makhija S, Kimberly R, Zhou T. Synergistic induction of tumor cell apoptosis by death receptor antibody and chemotherapy agent through JNK/p38 and mitochondrial death pathway. *Oncogene* 2003;22:2034–2044.

[22] Sebolt-Leopold JS. Development of anticancer drugs targeting the MAP kinase pathway. *Oncogene* 2000;19:6594–6599.

[23] Arslan MA, Kutuk O, Basaga H. Protein kinases as drug targets in cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2006;6:623–634.

[24] Silva CM. Role of STATs as downstream signal transducers in Src family kinase-mediated tumorigenesis. *Oncogene* 2004;23:8017–8023.

[25] Hess J, Angel P, Schorpp-Kistner M. AP-1 subunits: quarrel and harmony among siblings. *J Cell Sci* 2004;117:5965–5973.

- [26] Basseres DS, Baldwin AS. Nuclear factor- κ B and inhibitor of κ B kinase pathways in oncogenic initiation and progression. *Oncogene* 2006;25:6817-6830.
- [27] SP600125, an inhibitor of Jnk pathway, reduces viability of relatively resistant cancer cells to doxorubicin. Kim JH, Kim TH, Kang HS, Ro J, Kim HS, and Yoon S. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009 Sep 25;387(3):450-5
- [28] Jnk signaling pathway-mediated regulation of Stat3 activation is linked to the development of doxorubicin resistance in cancer cell lines. Ju-Hwa Kim, Seok Chul Lee, Jungsil Ro, Han Sung Kang, Hyung Sik Kim, and Sungpil Yoon. *Biochemical Pharmacology*, 2010 Feb, 79:373-380
- [29] J.H. Kim, M. Chae, W.K. Kim, Y.J. Kim, H.S. Kang, H.S. Kim, S. Yoon, Salinomycin sensitizes cancer cells to the effects of doxorubicin and etoposide treatment by increasing DNA damage and reducing p21 protein, *Br. J. Pharmacol.* 162 (2011) 773-784.
- [30] W.K. Kim, J.H. Kim, K. Yoon, S. Kim, J. Ro, H.S. Kang, S. Yoon, Salinomycin, a p-glycoprotein inhibitor, sensitizes radiation-treated cancer cells by increasing DNA damage and inducing G2 arrest, *Invest. New. Drugs.* 2012, 30:1311-1318.
- [31] Salinomycin sensitizes antimitotic drugs-treated cancer cells by increasing apoptosis via the prevention of G2 arrest. Ju-Hwa Kim, Hye-In Yoo, Han Sung Kang, JungsilRo, and Sungpil Yoon. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012, 418:98-103.
- [32] Lower Salinomycin Concentration Increases Apoptotic Detachment in High-Density Cancer Cells. Ju-Hwa Kim, Tae Young Kim, Hyung Sik Kim, Suntaek Hong, and Sungpil Yoon. *Int. J. Mol. Sci.* 2012, 13, 13169-13182.

[별첨]

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호	NCC1310210		
사업구분	기관고유연구사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	기관고유연구사업 일반 (창의)과제				주관
총괄과제				총괄책임자	
과제명	DNA damaging 항암제 또는 antimetabolic 항암제 내성 극복 연구를 통한 새로운 chemotherapy 방법의 개발			과제유형	기초
연구기관	국립암센터			연구책임자	윤성필
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	연구비	민간	계
	1차년도	2013.1.1 ~ 2013.12.31	80,000		
	2차년도	2014.1.1 ~ 2014.12.31	80,000		
	3차년도	2015.1.1 ~ 2015.12.31	48,000		
	계	2013.1.1 ~ 2015.12.31	208,000		
참여기업					
상대국		상대국연구기관			

2. 평가일 : 2015년 10월 28일

3. 평가자(과제책임자) :

소속	직위	성명
유방내분비암연구과	선임연구원	윤성필

4. 평가자(과제책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	윤성필
----	-----

I. 연구개발실적

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 우수

P-gp overexpression 내성극복에 관계된 새로운 방법을 제시할 것으로 사료됨. 또한, Akt pathway 관련 단백질을 줄일 수 있는 암세포의 맞춤형치료로 salinomycin의 도입에 대한 토대를 제공할 것으로 사료됨.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수

Drug repositioning의 새로운 항암 co-treatments 요법은 임상에서 사용하는 약물위주로 연구가 됨으로 새로운 combination 발견시 빠른 시일 내에 임상에 적용 가능함. 즉, toxicity가 이미 검증 되었으므로 임상에 쉽게 적용이 가능할 것임.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : 우수

임상으로부터 암치료에 있어서 salinomycin, primaquine, mefloquine, selnate, SP60015등의 사용을 촉진 시킬수 있을 것으로 사료됨. 즉, 이러한 새로운 조합의 발견으로 임상에 적용될 수 있는 새로운 병용요법을 제시할 것임.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 아주우수

다양한 drugs을 screening했고, molecular 측면에서도 다양한 antibodies를 이용하여 발현과 활성도를 측정 했음. 즉, 보다 많은 screening으로 최상의 조건을 찾으려고 노력했음. 또한, 학계에 논문을 통한 빠른 보고를 함으로써, 약물들의 임상도입을 촉진할수 있는 노력을 기울였음.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 아주우수

항암제를 sensitization 할 수 있는 새로운 조건에 대한 7개의 논문을 연구기간중 (2013년-2015년)에 이미 발표 보고했음. 또한, 2개의 약물관련 review논문을 보고했음. 앞으로 2-4개의 논문을 2016년 내에 submit하기 위해 준비하고 있음.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
<p>: Salinomycin연구 part</p> <ul style="list-style-type: none"> - Salinomycin이 doxorubicin, etoposide에 관계된 DNA damaging 항암제 외에 다른 종류의 항암제를 sensitization 시키는 지에 대한 연구 - Salinomycin sensitization과 관계된 전사인자와 signaling pathways의 탐색에 대한 연구 - Salinomycin에 저항적인 내성암세포주를 만드는 연구 - Salinomycin에 대한 내성 세포주를 sensitization 시키는 항암제와 기작 연구 - Salinomycin이 다양한 종류의 targeting항암제를 sensitization 시키는 지에 대한 연구 	60	90	<ul style="list-style-type: none"> - 기존의 많이 사용되는 다양한 항암제와 salinomycin의 co-treatment 후에 combination effect를 가지는 지를 관찰했음. 또한 어떠한 항암제와 가장 좋은 combination effect를 가지는 지를 관찰했음 - 만들어진 salinomycin 내성 세포주를 가지고 어떠한 항암제에 의해 sensitization 되는지 그리고 얼마나 효과적인지, 어떠한 항암제가 가장 좋은지를 연구했음. DNA damaging 항암제 외에 antimitotic 항암제, targeting 항암제까지도 관찰했음. - 저항적인 암세포를 만들었고, 새로운 특징을 발견했음. DNA damaging 항암제에 의해 sensitization된다는 것을 알았음. Salinomycin에 저항적인 암세포가 P-gp pathway와는 무관하다는 것을 알 수 있었음. - Akt targeting 항암제뿐만 아니라 다양한 targeting 항암제와 salinomycin의 combination에서 어떠한 결과를 가지는지를 관찰했음. - Salinomycin이 targeting drug (AZD5363와 MK2206)과 co-treatment 시에 sensitization 시키는 결과를 얻었음.
<p>: 새로운물질 탐색 part</p> <ul style="list-style-type: none"> - DNA damaging 항암제 또는 antimitotic 항암제의 효과를 증가시킬 수 있는, 더 많은 새로운 물질의 탐색과 기작 규명에 대한 연구 - 항암제 내성을 가지는 세포를 sensitization 하는 찾아낸 새로운 물질 primaquine, mefloquine, thioridazine의 심층 연구 	40	90	<ul style="list-style-type: none"> - 여러 가지 다양한 sources에서 항암 성분을 가지는 물질들을 확보해 왔음. 또한 최근의 논문과 경향을 분석해서 항암역할의 가능성을 가지는 물질을 확보해 왔음. 이러한 물질과 기존의 많이 사용되는 항암제와의 co-treatment 후에 combination effect를 가지는 지를 관찰했음. - 또한, 임상에 사용되고 있는 non-cancer drugs인 selenate가 drug-resistant 암세포를 sensitization하는 것을 알 수 있었음.

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

: Salinomycin이 targeting drug (MK-2206)과 co-treatment 시에 sensitization 시키는 결과를 얻었음.

: Salinomycin이 PI3K, pAkt, mTOR signaling 경로와 관련된 사실을 발견했고, FOXO 전사인자와의 관련성을 발견했음.

: Salinomycin에 저항적인 암세포를 만들었고, sensitization을 위한 다양한 항암제를 test했음.

: Salinomycin에 저항적인 암세포를 만들었고 특성을 관찰했음. 또한, sensitization을 위한 다양한 항암제를 test 했음. Salinomycin에 저항적인 암세포가 P-gp pathway와는 무관하다는 것을 알았음. 그리고 salinomycin의 저항 암세포는 세포표면에 부착정도가 강하지 않다는 것을 알았음.

: 항암제 내성세포주인 KBV20C에서, 임상에 사용되고 있는 selenium의 5가지 종류의 drugs중에서, selenate가 내성세포주 specific하게 sensitization 시키고 G2 arrest를 증가 시킨다는 것을 알았음.

: 임상에 사용되고 있는 non-cancer drugs인 primaquine, mefloquine, thioridazine 가 antimetabolic 항암제의 효과를 증가 시키는 결과를 얻었음. 또한 어떠한 방법으로 sensitization하는 지의 기작을 알 수 있었음.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

: Salinomycin, primaquine, mefloquine, selenate, SP60015, Akt pathway inhibitors에 대한 co-treatment 결과가 최근에 Hot issues라는 점에서, 최근의 trends로 현연구가 진행 되었다는점.

: Drug repositioning분야는 새로운 기작 발견시에 임상적용이 빠를수 있다는 점. 따라서 금번 연구결과가 빠른 시일내에 임상 적용이 가능할 수 있다는 점.

: 다양한 Akt signaling 단백질을 동시에 줄일 수 있는 맞춤형치료의 토대를 제공하는 최근의 trends 관점에서 현연구가 진행 되었다는점.

: Akt targeting inhibitors가 salinomycin과 같은 cancer stem cell drug의 효율을 높일수 있는 방법으로 쓰일수 있다는 점으로 현연구가 진행 되었다는점.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

: 임상의로부터 암치료에 있어서 salinomycin, primaquine, mefloquine, selenate, SP60015등의 사용을 촉진 시킬수 있을 것으로 사료됨. 즉, 이러한 새로운 조합의 발견으로 임상에 적용될 수 있는 새로운 병용요법을 제시할 것임.

: 연구기간중 발표된 논문과 앞으로 발표될 논문의 인용횟수가 3년내에 10회이상일 것으로 사료됨.

IV. 보안성 검토

1. 연구책임자의 의견

없음.

2. 연구기관 자체의 검토결과